PHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ANTHOCYANE

von

L. W. KUILMAN.

INHALTSVERZEICHNIS.

I. ABSCHNITT.

II. ABSCHNITT.

III. ABSCHNITT.

I. ABSCHNITT.

EINLEITUNG.

Die Lösung des Anthocyanproblems hat man im Laufe der Jahre in sehr verschiedenen Weisen herbeizuführen versucht.

Weitaus am häuftigsten war man bestrebt, es mittels chemischer Methoden zu bearbeiten. Nun läszt es sich nicht leugnen, dasz besonders in den letzten Jahrzehnten die Chemie des Anthocyans durch die Arbeiten von Männern wie Willstätter und Karrer sehr grosze Fortschritte gemacht hat. Andererseits ist aber nicht zu vergessen, dasz unsere Kenntnisse bezüglich der chemischen Struktur der Anthocyane noch sehr grosze Lücken aufweisen. So ist z. B. die Konstitution der in den Vegetationsorganen enthaltenen Anthocyane durchaus unbekannt; beschränken sich die Strukturforschungen doch immer auf den Farbstoff der Blüten und der Früchte. Es braucht also gar nicht zu verwundern, dasz die Versuche, das betreffende Problem mittels chemischer Methoden zu lösen

nicht bis zu einem endgültigen Resultat gelungen sind und sehr oft fehlschlugen.

Nicht selten hat man sich auch bemüht, einen tieferen Einblick in die Ursachen der Rotfärbung zu erhalten durch das Studium des Gaswechsels roter Blätter. Und obgleich die diesbezüglichen Versuche schon sehr frühzeitig unternommen worden sind, so haben sie doch unsere Anschauungen nur wenig zu erweitern vermocht. Die verschiedenen Forscher gerieten zu ebensovielen verschiedenen Resultaten und die Frage nach der Atmungs- oder der Assimilationsintensität roter Blätter bleibt heutzutage noch vielfach dahingestellt.

An dritter Stelle beschäftigten viele Forscher sich mit den Faktoren, welche den Prozess der Anthocyanbildung in der Pflanze beeinflussen. Es herrscht aber auf diesem Gebiete ebensowenig Klarheit in bezug auf die Deutung der beobachteten Erscheinungen. Bald wurde z. B. eine Abhängigkeit der Anthocyanbildung vom Lichte beobachtet; bald aber zeigten sich die Pflanzen auch im Dunkeln zu einer intensiven Anthocyanbildung befähigt. Einerseits geben viele Forscher einen fördernden Einflusz der niedrigen Temperatur auf die Synthese des roten Farbstoffes in der Pflanze an, und andererseits ist est eine unumstrittene Tatsache, dasz gerade in den Tropen besonders viele Pflanzen den Farbstoff in groszen Mengen enthalten.

Also ist die Frage nach der physiologischen Bedeutung des charakteristischen roten Farbstoffes noch weit von ihrer Lösung entfernt. Nun ist zweifelsohne die experimentelle Bearbeitung der verschiedenen Seiten des Problems mit groszen Schwierigkeiten verknüpft. Und es liegen zurzeit noch wenig exakte Methoden vor, welche man zu diesem Zweck benutzen kann. Doch wird durch diesen Umstand nicht erklärt, weshalb bis zum heutigen Tage jeder Versuch, die Frage nach den Beziehungen zwischen

den Anthocyanen und dem Gaswechsel in einwandfreier Weise zu lösen, zurückblieb. Die verfeinerte Methode der Assimilationsbestimmung, welche schon vor fünfzehn Jahren von Willstätter ausgearbeitet wurde, hat man zu einer eingehenden Forschung der Assimilationsintensität roter Blätter nie angewendet. Merkwürdig ist gleichfalls, dasz bisher kein Forscher versucht hat, das Problem des Zusammenhangs zwischen der Anthocyanbildung und der Temperatur in einer einigermaszen exakten Weise zu lösen.

Die vorliegende Arbeit beabsichtigt eine Erläuterung einiger Punkte unserer Kenntnisse bezüglich der physiologischen Bedeutung des Anthocyans. An erster Stelle wird man eine eingehende historische Betrachtung über die verschiedenen Anschauungen finden, welche es im Laufe der Jahre bezüglich der chemischen Seite des Problems gegeben hat. Zweitens beschäftigten wir uns mit einer möglichst einwandfreien Lösung der Frage nach den Beziehungen zwischen dem roten Farbstoff und der Assimilationsintensität. Und schlieszlich versuchten wir bei einer bestimmten Pflanze der Frage nach der Abhängigkeit des Prozesses der Anthocyanbildung vom Licht und von der Temperatur etwas näher beizukommen und einen tieferen Einblick in die verschiedenen Reaktionen, welche sich an diesem Prozess beteiligen, zu erhalten.

Es wird sich bei der Besprechung der Fragen zeigen, dasz die Sachen sich manchmal weit komplizierter verhalten als von den verschiedenen Forschern angegeben wird. Andererseits ergab sich bei der Anstellung der Versuche und der Ausarbeitung der Methoden, dasz eine exakte Bearbeitung verschiedener Unterteile des Problems zurzeit gar nicht zu den Unmöglichkeiten gehört.

II. ABSCHNITT.

HISTORISCHE BETRACHTUNGEN ÜBER DIE CHEMISCHEN PROZESSE, WELCHE BEI DER ANTHOCYANBILDUNG BETEILIGT SIND.

§ 1. Einleitung.

Priestley entdeckte im Jahre 1774 den Gaswechsel der grünen Pflanzen. Er stellte zum ersten Male experimentell die Sauerstoffabgabe fest.

Ingenhousz (1779) wurde sich der groszen Bedeutung dieser Entdeckung bewuszt; er machte die Funktion der Laubblätter klar und fand eine Beziehung zwischen Assimilation und grünem Blattfarbstoff.

Damit war nicht nur ein bedeutender Fortschritt in der Entwicklung der Pflanzenphysiologie gemacht, sondern durch die Arbeiten dieser Männer wurde ein Arbeitsfeld betreten, das bis zum heutigen Tage nur noch zum Teile angebaut ist.

Schon J. Senebier (1782) [1]) faszte den groszen Umfang des Gegenstandes, als er in seinen *Mémoires physicochimiques* anfing ein systematisches Studium des Prozesses der Kohlensäureassimilation zu machen. Von den vielen Fragen, welche er sich stellt, ist folgende in Hinsicht auf die vorliegende Arbeit besonders erwähnenswert:

„Les feuilles, donnent-elles de l'air dans tous les „états, où elles se trouvent pendant leur vie?"

Mit diesen Worten war die Problemstellung in richtiger Weise gegeben. Welche Bedeutung hat die Verwandlung der Farben — oder allgemeiner: eine andere Farbe als das Grün — für das Leben der Pflanze, und ins besondere für die Sauerstoffabgabe?

Die Antwort Senebiers lautet: Keine. Denn das Rotwerden ist für diesen Untersucher keine Lebenserscheinung, sondern ein Zeichen des Absterbens, eine Folge des Aufhörens der Lebensprozesse:

„Les feuilles rouges, qui sont sur le point de tomber, „......sont mortes, tout principe de végétation y est éteint......"

Man wird fragen: Aber wie betrachtet er dann das Auftreten der roten Farbe in den jugendlichen Blättern? Den Zusammenhang zwischen den beiden Erscheinungen versucht er in dem folgenden, etwas wunderlichen Gedankengang zum Ausdruck zu bringen:

„Enfin il paroit, que cette rougeur ne s'annonce, que „lorsque la circulation cesse d'être bien établi, comme „dans les jeunes feuilles, où elle commence, et dans les „vieilles, où elle s'éteint".

Zwei Tatsachen vermögen nach Senebier diese Theorie zu stützen. Erstens findet er, dasz die herbstlich roten Blätter keinen, und die jugendlich roten Blätter nur sehr wenig Sauerstoff auszuhauchen im Stande sind. Die Sauerstoffabgabe der letzteren ist viele Malen geringer als bei den Blättern, welche in ihrer Jugend grün sind.

Den zweiten Beweis für die Richtigkeit seiner Anschauungen sucht er in der Bildungsweise des roten Farbstoffes:

„La matière parenchymateuse des feuilles, qui est „verte, qui teint seul l'esprit de vin, qui est indissoluble „dans l'eau, est certainement aussi cette matière, qui a „rougi dans les feuilles rouges, puisque cette couleur a „faite place à la couleur verte, mais il est vrai en même „temps, que cette matière a souffert quelque altération „dans cette métamorphose, puisque elle teint alors un „peu de l'eau, ce qui n'arrive jamais à la matière verte. „Il paroit donc d'abord...... que la feuille a souffert, „qu'elle est morte, quand elle a rougi".

Etwas weiter findet man, dasz die nächste Ursache des Rotwerdens der Blätter im Sauerwerden der Blätter und

der Blattsubstanz zu suchen sei. Senebier nimmt in der Pflanze nur *ein* farbendes Prinzip an: das Gelb. Davon lassen sich alle anderen Farben durch kleinere oder gröszere Modifikationen ableiten. Das Rotwerden ist aber nicht nur eine Modifikation, es ist eine Zerlegung, welche stattfindet, wenn die Lebensprozesse sistieren.

Auch bei de Lamarck und de Candolle (1815) [2]) findet man, viele Jahre später, ähnliche Betrachtungsweisen. In der *Flore française,* welche im Jahre 1815 zu Paris herausgegeben wurde, sagt de Lamarck, dasz er die herbstlichen Farben betrachtet „comme des états morbifiques". Merkwürdigerweise sucht er die Blütenfarben in ähnlicher Weise zu erklären. Die Blumenblätter, sagt er, sind von Natur in einem ähnlichen Zustande, wie die roten Blätter im Herbst. Denn wie diese transpirieren sie nicht, und auch geht ihnen die Fähigkeit, Kohlensäure zu zerlegen, ab.

Offenbar pflichteten viele Forscher dieser Meinung bei, findet man doch bei Princep (1828, § 2), dasz mehrere Physiologen, unter welchen er die zwei obengenannten mit Namen nennt, die herbstliche Färbung der Blätter wie eine Art Todeszustand betrachteten.

Diese Weise, die genannten Erscheinungen zu erklären, hat für uns nur noch historisches Interesse. Doch soll man nicht vergessen, dasz Senebier mit seinen Untersuchungen der naturwissenschaftlichen Welt eine Fülle von Tatsachen geboten hat, welche zur exakten Weiterverarbeitung am sehrsten geeignet war. Im Laufe des vorigen Jahrhunderts hat es denn auch viele Forscher gegeben, welche sich mit der der physiologischen Bedeutung des Anthocyans beschäftigten.

Dieses Problem hat man in verschiedenen Weisen in Angriff genommen. Am häufigsten hat man sich bestrebt, es von chemischer Seite zu lösen, indem man eine

Untersuchung nach den chemischen Prozessen anstellte, welche bei der Anthocyanbildung beteiligt sind, und man den chemischen Charakter der möglichen Vorstufen des roten Farbstoffes in der Pflanze kennen zu lernen versuchte. Obgleich dieses Verfahren die Physiologie nur sehr wenig vorwärts gebracht hat, so ist doch eine eingehende Besprechung der diesbezüglichen Arbeiten zum rechten Verständnis der verschiedenen physiologischen Anschauungen über das Anthocyan unbedingt notwendig. Denn wie immer haben auch hier die chemischen Forschungen die Physiologie nicht unberührt gelassen.

§ 2. Die Chromuletheorie.

Es versteht sich, dasz die Theorie Senebiers, nach welcher man das Rotwerden der Pflanzen nicht zu den Lebenserscheinungen zu rechnen habe, nicht haltbar war, sobald man die Sachen etwas genauer zu erwägen lernte. Schon der Versuch der im vorigen Paragraphen genannten Forscher, auch die jugendlichen Blätter und die farbigen Teile der Blüten in ihre Betrachtungsweise aufzunehmen, war nicht sehr geeignet sie zu stützen.

Th. de Saussure (1804) [3]) war der erste Forscher, der den Folgerungen Senebiers in ihrer Allgemeinheit nicht beipflichten konnte. Er fand nämlich, dasz die rote (er sagt „veränderliche") Varietät von Atriplex hortensis, wo alle grünen Teile durch rote oder purpurfarbige ersetzt sind, ebensoviel Sauerstoffgas aushauchte, wie die grüne Varietät derselben Pflanze. Er schlosz daraus, dasz die grüne Farbe kein wesentlicher Bestandteil derjenigen Organe sei, welche zu einer Kohlensäurezerlegung befähigt sind. Dasz es in der genannten Pflanze auch Chlorophyll gibt, wuszte de Saussure offenbar nicht; nur wollte er mit diesen Worten sagen, dasz es irrig sei, die rote Farbe als ein Kennzeichen des Todes zu betrachten.

Dieser Gedanke fand denn auch seitdem keine Anhänger

mehr. Um so mehr aber die zweite Hypothese Senebiers bezüglich der Umwandlung des grünen Farbstoffes in den roten. Viele Forscher haben versucht, Beweise für ihre Richtigkeit beizubringen. Die altbekannte Tatsache der Farbenänderung des Anthocyans in Rot oder Grün [4]) wurde im Anfang des neunzehnten Jahrhunderts aufs neue studiert und bestätigt. Zu der Zeit war aber Säurewirkung mit Oxydation, und Alkaliwirkung mit Reduktion identisch.

In diesem Lichte ist die Arbeit von Schübler und Franck zu betrachten (1826) [5]). Sie fanden, dasz ein weingeistiges Extrakt herbstlich roter Blätter mit Säuren intensiv rot wird, während diese Farbe sich nach Hinzufügung von Laugen erst in Grün, später in Blau verwandelt. Und sie verglichen diese Reihenfolge der Farben mit dem Sonnenspektrum, wo man auch von Rot durch Grün zu Blau geht. Unglücklicherweise glaubten sie, dasz diese grüne Farbe vom gewöhnlichen grünen Blattfarbstoff herrühre, und sie folgerten daraus, dasz das Anthocyan ein Oxydationsprodukt von Chlorophyll sei.

Obgleich nur einmal, und beiläufig, versuchten die genannten Forscher doch auch den Gaswechsel in ihre Betrachtungen aufzunehmen. Bei einer von Natur rot blühenden Hortensia gelang es ihnen nämlich, die roten Blüten in blaue zu verwandeln, als sie die Pflanze wachsen lieszen in Bodenarten, „welche viel Kohlenstoff enthielten". Und sie erklärten den Farbenwechsel in folgender Weise: *) Der Kohlenstoff hält den Sauerstoff im Boden zurück, wodurch die ganze Pflanze in einen desoxydierten Zustand versetzt wird. Ein Tröpfchen einer schwachen Säure — d. h. eines oxydierenden Agens — genügt jedoch, um die blaue Farbe dieser Blüten wieder in das gewöhnliche

*) Bekanntlich rührt die blaue Farbe dieser Blüten von der Anwesenheit kleiner Mengen Fe oder Al im Boden her.

Rot zu verwandeln, „was nicht geschehen könnte, wenn etwa absorbierte Kohle als solche die Ursache dieser blauen Farbe war."

L. Elsner ist mit diesen Einsichten völlig einverstanden. Nach ihm ist der rote Farbstoff ein durch die Lebenstätigkeit der Pflanzen verändertes Blattgrün; denn

> „nur in den grün gefärbten Pflanzenteilen finden die „Funktionen des Lebens statt, in allen anders gefärbten „haben dieselben aufgehört. Diese haben das Ziel ihrer „Bestimmung erreicht, und wie rasch sie ihrer gänz- „lichen Entwicklung entgegeneilen, sehen wir an den „Blumen und den herbstlich gefärbten Blättern".

Ähnliches findet man in französischen Schriften derselben Zeit.

Recht ausführlich handelt z.B. Macaire Princep (1828)[8]) über den Gegenstand. Es liegen ihm für die Annahme einer Verwandlung des Chlorophylls in das Anthocyan dieselben Gründe vor wie Schübler; auszerdem findet er eine Bestätigung seiner Betrachtungen im Gaswechsel, namentlich der roten Pflanzen. Den experimentellen Anweisungen seines Kollegen de Saussure folgend, findet er, dasz die Kohlensäureassimilation aufhört, sobald die rote Farbe zum Vorschein kommt. In bezug auf die Atmung sagt er, dasz sie während des Rötens immer geringer wird, und wenn das Blatt seinen Höchstbetrag an rotem Farbstoff bekommen hat, ist sie Null. Daraus schlieszt er, dasz die Rotfärbung ihre Ursache findet in: „la fixation de cet oxygène à la matière colorante de la feuille". Den Namen Chlorophyll beizubehalten für einen Stoff, welcher so wechselnde Eigenschaften zeigt, schien ihm unzweckmäszig; zusammen mit de Candolle wählt er für das färbende Prinzip der Pflanzen den neuen Namen: Chromule.

Auch A. P. de Candolle ist sein lebenlang ein eifriger

Verfechter dieser Chromuletheorie gewesen; er bespricht sie ausführlich in seinem bekannten Buche: *Physiologie végétale* (1832). [9]). Nach ihm bilden sich alle Farben aus dem Chlorophyll, entweder durch Oxydation oder durch Desoxydation. Er teilt die Farben in eine oxydierte und eine desoxydierte Reihe ein. Diese enthalte einen Teil der roten und die gelben Farben, während jene einen andern Teil der roten und die blauen Farben umfasse (xanthische und cyanische Farbenreihe). Dementsprechend teilt er die höheren Pflanzen in zwei Gruppen ein, je nachdem ihre Blütenfarben zur einen oder zur andern Reihe gehören. Merkwürdig ist, dasz er noch im Jahre 1832 ohne weiteres die Worte de Lamarcks (siehe § 1.) in bezug auf den Todeszustand der rotgefärbten Organe zitiert. Die Anschauungen de Candolles bilden also kaum mehr als eine nähere Präzisierung derjenigen Senebiers; und in dieser Hinsicht steht er hinter Schübler und besonders hinter Princep zurück.

Die Entwicklung der Chemie war damals aber schon so weit fortgeschritten, dasz sie mit den experimentellen Tatsachen, welche die Vertreter der Chromuletheorie zu ihrer Stützung herbeiführten, nicht einverstanden sein konnte. So braucht es gar nicht zu verwundern, dasz die Bekämpfung in erster Instanz von chemischer Seite kam.

Cl. Marquart ist der Meinung, dasz der von Schübler und Franck eingeschlagene Weg nur falsche Resultate geben kann: (1835) [10])

„Der Versuch, durch Reagentien die Ordnung der „Farben näher zu verfolgen und eine chemisch-vege- „tabilische Reihe aufzustellen im Gegensatz zur prisma- „tischen ist wohl mehr eine schöne Spielerei und kann „dem Chemiker nicht genügen".

Mit aller Strenge wünscht er sich den Ausdrücken: oxydierte und desoxydierte Farbenreihe zu widersetzen,

> „da diese Ausdrücke, wenn sie auf etwas bestimmtes „stützen, sehr bezeichnend sind. Hier aber, wo noch „niemand die Blütenfarbstoffe in chemisch reinem „Zustand sah, darf man solche Ausdrücke nicht ge-„brauchen".

Leider ist Marquart nur sehr wenig über die Theorie, welche er zu bekämpfen versuchte, hinausgekommen, nimmt er doch an, dasz das Anthocyan gebildet wird, wenn man „Chlorophyll oder den Elementen desselben Wasser entzieht". Dagegen erhalte man Anthoxanthin — d.h. den gelben Farbstoff der Blüten — wenn Chlorophyll Wasser aufnehme. Zu diesen Schlüssen wird er durch folgende Erwägungen geführt: „Wenn man dem Chlorophyll konzentrierte Schwefelsäure hinzufügt, ändert sich die grüne Farbe in eine blaue: Anthocyan! Digeriert man aber Chlorophyll — d. h. den Rückstand eines alkoholischen Extraktes grüner Blätter kurze Zeit mit Wasser bei 15° R — so nimmt die Flüssigkeit eine gelbe Farbe an: diese soll von Anthoxanthin herrühren. Es ist klar, dasz Marquart die Anthocyanforschung nicht viel weiter geführt hat.

Auch Berzelius beschäftigte sich mit dem Gegenstande (1837) [11,12]. Er war der erste Forscher, der sich bestrebte die Farbstoffe aus den Blättern zu extrahieren und sie mittels chemischer Methoden rein darzustellen. Es ist unzweifelhaft sein groszes Verdienst, dasz er mit diesen Versuchen die ersten Schritte tat auf dem Wege, der schlieszlich — nach vielen mühsamen Arbeiten — zu den chemisch reinen Präparaten führen sollte. Die grüne Fällung, welche in der Farbstofflösung entsteht nach Hinzufügung von Kalkmilch, wuszte er deutlich von Chlorophyll zu unterscheiden. Nach seiner Meinung verwandelt sich das Chlorophyll beim Absterben der

Blätter im Herbst in einen gelben Farbstoff; vergeblich versucht er aber das Blattgrün aus dem Blattgelb wieder hervorzubringen, auch gelang es ihm nicht das Blattgrün in Blattgelb zu verwandeln. Von einer Beziehung zwischen Anthocyan und Chlorophyll ist aber in seinen Arbeiten nirgendwo die Rede. Auch stellt er keine Versuche zur Verwirklichung dieser Umwandlung im Reagenzglas an.

Und schlieszlich gedenken wir Gmelins [13]), der schon frühzeitig nachwies, dasz die experimentellen Daten Macaire Princeps in mehreren Hinsichten der Korrektion brauchten. Auch war es ihm schon bekannt, dasz die im Herbst rotgewordenen Blätter gelbgewordenes Chlorophyll und einen blauen, durch Säuren geröteten, Extraktivstoff enthalten.

Ein starker, mehr positiver Widerspruch erhob sich seitens der Anatomie. Der Weg dazu wurde von Meyen und Roeper gebahnt.

Meyen (1830) [14]) findet den roten Farbstoff fast immer im Zellsaft gelöst; aber die grüne Farbe befindet sich lokalisiert in Bläschen, welche sehr verbreitet sind im Zellkörper (offenbar: Chlorophyllkörner) und die grüne Farbe der Pflanzen bewirken.

Roeper (1833) [9]) macht — dazu durch die Anschauungen de Candolles veranlaszt — ebenso auf diese Verhältnisse aufmerksam.

Sehr scharf und recht ausführlich äuszert sich Hugo von Mohl (1837) [15]) bezüglich der anatomischen Seite des Problems. Der Wichtigkeit wegen wurde seine Arbeit ins Französische übersetzt [16]). Er war der erste, der die Pflanzen mit genetisch roten Blättern — wie Fagus silvatica var. rubra — und diejenigen mit zeitweilig roten Blättern — wie Ampelopsis im Herbst oder im Frühling — unter einem Gesichtspunkt zusammenfaszte. Bisher war so etwas keinem Physiologen eingefallen. Man hatte diese roten

Zellen in Pflanzen wie Fagus mehr als eine Eigentümlichkeit einzelner Arten betrachtet, als dasz sie zu einer Vergleichung mit den herbstlich roten Blättern benutzt wurden. Offenbar in Hinsicht auf die Arbeit Schüblers macht er den Physiologen zum Vorwurf, dasz sie sich „mehr abgaben, über die Farbe der Pflanzen zu spekulieren, sie mit den Regenbogenfarben zu vergleichen, als dasz sie gesucht hätten die materiellen Farbstoffe selbst kennen zu lernen". Und weiter:

„Schübler.... und Macaire Princep begingen „den Fehler, dasz sie ihre chemischen Untersuchungen „nicht mit anatomischen Untersuchungen der Organe, „in welchen die Farbstoffe niedergelegt sind, verbanden, „daher auch nicht wuszten ob nur einer oder mehrere „Farbstoffe in dem Teile lagen, welchen sie unter-„suchten...."

Von Mohl selber betrachtet besonders diejenigen Blätter, welche im Sommer volkommen grün sind, im Winter mehr oder wenig rot werden und im folgenden Sommer wieder ihre gewöhnliche Farbe annehmen. Bei derartigen Pflanzen sieht man im Winter das Anthocyan und das Chlorophyll ruhig neben einander bestehen in derselben Zelle. Auch unterscheidet das Chlorophyll im Winter sich gar nicht vom grünen Farbstoff im Sommer. Über die Menge des Chlorophylls sagt diese mikroskopische Beobachtung offenbar gar nichts aus. Es scheint ihm aber wenigstens sehr zweifelhaft, ob die Anatomie überhaupt im Stande sein wird, diese Frage zu lösen. Am weitesten kommt er in dieser Hinsicht durch die Beobachtung von Zellen, welche nur zum Teile rot gefärbt sind, ohne dasz dabei in dem gefärbten Teil irgendwelche Änderung der Chlorophyllkörner bemerklich ist. Im allgemeinen läszt sich sagen, dasz das Vorkommen von Pflanzen mit winterlich roten Blättern, welche im Frühjahr wieder ihre normale

grüne Farbe erlangen, die Beziehungen zwischen dem Absterben der Blätter und dem Auftreten der roten Farbe wohl sehr fraglich macht. Auch in der Bildung des Anthocyans in derartigen Pflanzenteilen, welche vorher farblos waren, sieht von Mohl einen Grund für die Unabhängigkeit des roten und des grünen Farbstoffes.

In ähnlicher Weise haben auch Chevreul und Morren die Frage zu lösen versucht.

Chevreul (1857) [17]) beobachtete die braunen Flecken auf den Blättern von Pelargonium zonale. Er erkannte, dasz sie dem rotgefärbten Zellsaft zu verdanken waren; wird der rote Farbstoff extrahiert, so bleibt die vorher braune Stelle rein grün zurück. Die grüne Farbe in diesem Blatteil unterscheidet sich in nichts von der grünen Farbe im ursprünglich grünen Teil.

Und schlieszlich findet man bei Ed. Griffon (1899) [82]) das nachstehende Zitat, einer Arbeit Morrens (1858) [18]) entnommen:

„L'observation prouve que partout dans les feuilles „rouges, dans les fruits et dans les fleurs, l'erytrophylle „se forme directement, soit dans les cellules où il n'a „jamais existé de chlorophylle, soit en laissant celle-ci „intacte à côté d'elle. Dans les feuilles rougies à l'automne, „alors qu'une apparence trompeuse et une observation „superficielle peuvent induire en erreur, la matière „colorante rouge se forme pendant que la chlorophylle „jaunit et disparait, mais ces deux phénomènes sont „indépendants".

Griffon selber fügt noch hinzu:

„Il montra, lui aussi, que la substance rouge est „dans le suc cellulaire, et qu'elle ne peut alterer les „chloroleucites, qui sont, eux, dans le protoplasme".

Selbstverständlich war die Chromuletheorie der Bekäm-

pfung, wie mangelhaft diese auch war, gar nicht gewachsen. Und seit Marquart (1835) hat es denn auch keinen ernsthaften Forscher mehr gegeben, der diese Theorie verfocht. In den neueren Theorien findet man die groszen Fortschritte, welche die Chemie und die Botanik im Laufe des vorigen Jahrhunderts gemacht haben, zurück.

§ 3. Vermeintliche Beziehungen zwischen den Anthocyanen und den Gerbstoffen.

Von den unter den Namen Gerbstoffe bekannten Verbindungen gibt Czapek in seinem Buche: *Biochemie der Pflanzen* folgende allgemeine Charakterzüge: [19])

„Den zusammenziehenden Geschmack, die adstrin-
„gierende Wirkung auf die Schleimhäute, die schwärz-
„liche Reaktion mit Eisensalzen, die Fällbarkeit mit
„Leim, Eiweisz, Alkaloiden und Kaliumbichromat; und
„die rot oder braun gefärbten Oxydationsprodukte".

Der Begriff Gerbstoff umfaszt Verbindungen sehr verschiedener chemischer Konstitution; nur kann man sagen, dasz sie zu den Polyphenolsäuren gehören. Die Klassifikation „Gerbstoffe" ist von der Praxis her zur Theorie hinübergekommen. Ursprünglich nannte man nur diejenigen Stoffe Gerbstoffe, welche die tierische Haut zu gerben vermochten. Als man später auch andere Verbindungen fand, welche ähnlich wie die Gerbstoffe sich mit Eisenoxydsalzen schwarz färbten, reihte man dieselben auch unter die Gerbstoffe ein. So wurde der Begriff Gerbstoff immer mehr ausgedehnt, und, damit zusammengehend, immer mehr unscharf. Und es versteht sich, dasz Reinitzer (1899) [20]) sagt: „Unter den Namen Gerbstoffe finden wir ein buntes Gemisch der verschiedensten Stoffe vereinigt". In ähnlicher Weise äuszert sich auch Beilstein (1882) in der ersten Auflage seines Handbuches der organischen Chemie. In sehr vielen Fällen

hat man sich mit der Eisenchloridreaktion begnügt, wenn es den Nachweis von Gerbstoffen galt. Dasz man so zu ganz irrigen und sich oft widersprechenden Schluszfolgerungen kam, und die Gerbstoffe fast überall im Pflanzenreich verbreitet fand, ist selbstverständlich.

In den neuen Lehrbüchern findet man immer eine sehr grosze Anzahl von Reaktionen beschrieben, welche für den Nachweis von Gerbstoffen zu benutzen sind. Immerhin sagt Czapek, [21]) „sie seien mit der nötigen Reserve und Kritik zu gebrauchen und die chemische Untersuchung des Materials soll mit der mikrochemischen Hand in Hand gehen". Und Dekker (1906—1908) [22]) hebt besonders hervor, dasz man vor jeder Gerbstofforschung festzustellen habe, ob das Versuchsmaterial wirklich Gerbstoffe enthalte, und mittels welcher Reaktionen der Gerbstoff sich von den andern Bestandteilen derselben Pflanze unterscheiden lasse. Ein exaktes Verfahren für die quantitative Gerbstoffbestimmung gibt es trotzdem auch heutzutage noch nicht, und die Resultate, zu welchen man kommt, sind recht verschieden je nach der benutzten Methode.

Mehrere Forscher haben im Laufe der Jahre eine chemische und physiologische Beziehung zwischen den Anthocyanen und den Gerbstoffen vorausgesetzt; noch heutzutage ist eine derartige Vorstellung nicht ganz aus der Literatur verschwunden. Im vorliegenden Paragraphen beabsichtigen wir eine kritische Besprechung der diesbezüglichen Arbeiten. Wenn man aber die obengenannten Schwierigkeiten, welche mit den verschiedenen Fragen auf diesem Gebiete verknüpft sind, im Auge behält, so wird sich leider zeigen, dasz sehr viele Angaben die Probe nicht bestehen können.

Die ersten und immer wieder zitierten Versuche in dieser Hinsicht sind von A. Wigand (1862) [23]) unternommen worden. Aus anatomischen Rücksichten war er

ähnlich wie H. von Mohl (§ 2) mit der Chromuletheorie nicht einverstanden. Doch hält er die Existenz irgend eines Chromogens für sehr wahrscheinlich. Ins besondere wird die Anwesenheit einer derartigen farblosen Vorstufe nach der Meinung Wigands gefordert von den immergrünen Gewächsen, deren Blätter jeden Sommer grün sind, jeden Winter eine rote Farbe annehmen und also während ihres Lebens einen mehrfach widerholten Farbenwechsel zeigen. Nun glaubt er in allen Zellen, welche in Zukunft Anthocyan enthalten werden, Gerbstoffe nachgewiesen zu haben, färbt doch ihr Inhalt sich mit Eisenoxydsalzen schwarz und mit Akalien gelb. Bezüglich der chemischen Seite des Überganges Gerbstoff-Farbstoff glaubt Wigand, diese Umwandlung beruhe auf einer Oxydation, aber er unterläszt die Angabe auch nur eines einzigen Beweises, welcher diese Hypothese zu stützen im Stande sei.

Dieser Mangel an experimentellen Daten ist Ursache, dasz die Arbeit Wigands durchaus unzulänglich ist, eine chemische oder physiologische Verwandtschaft zwischen den zwei Gruppen von Verbindungen annehmlich zu machen. Sie hat für uns nur noch historisches Interesse.

Nägeli und Schwendener (1877) [24]) können die Ansichten Wigands an einigen Beispielen, welche sich auf die rote Farbe der Blätter beziehen, bestätigen. Doch mahnen sie zur Vorsicht in bezug auf die Deutung der eintretenden Färbung nach Hinzufügung von Eisenoxydsalzen, wenn Gerbstoffe und Farbstoffe zusammen in einer Zelle anwesend sind.

Pfeffer (1881) [25]) hält den Übergang gar nicht für bewiesen; denn er sagt in der ersten Auflage seines bekannten Handbuches: „Eine Entstehung von Farbstoffen aus Gerbstoffen ist in keinem Falle sichergestellt und in manchen Fällen sicher nicht zutreffend". In der zweiten Auflage räumt er aber — offenbar unter Einflusz späterer Arbeiten — der Möglichkeit eines derartigen Überganges Platz ein.

Detmer (1883) [26]) sagt ohne weiteres, dasz die herbstliche Rotfärbung von Gerbstoffen herrühre.

Ähnliche Anschauungen werden beiläufig von E. Kutscher (1883) [27]) vertreten.

Eine ausführliche Abhandlung über die Anthocyane im allgemeinen und ihre Beziehungen zu den Gerbstoffen ins besondere verdanken wir H. Pick (1883) [28]). In bestimmten genau angedeuteten Zellen des Vegetationsscheitels verschiedener Pflanzen findet Pick eine hyaline, stark opalisierende Masse, welche er für eine Verbindung von Gerbstoffen mit Fetten hält. Darauf deutet die Schwarzfärbung mit Eisenoxydsalzen, die braunrote Fällung mit Kaliumbichromat und die schwarze Fällung, welche Osmiumsäure und Überosmiumsäure verursachen. Auch die Tatsache, dasz die Gerbstoffe in den Zellen zurückbleiben, wenn man diese jugendlichen Gewebe mit Wasser extrahiert, soll für eine Verbindung der Gerbstoffe mit unlöslichen Substanzen sprechen.

Gerade dieselben Zellen nun, deren Inhalt anfangs die genannten Gerbstoffreaktionen zeigt, färben sich später rot. Zieht man die rote Farbe mittels Wasser aus, so lassen sich keine Gerbstoffe mehr nachweisen. In dieser Weise glaubt Pick dargetan zu haben, dasz die Gerbstoffe und die Anthocyane in der Zelle in einem Wechselverhältnis vorkommen. Leider sind die von ihm benutzten Reaktionen nicht eindeutig: Die Reaktion mit Kaliumbichromat gelingt auch mit Gallussäure, Alkaloiden und Verwandten der Gerbstoffe, und die Fällung mit Osmiumsäure ist ebensowenig spezifisch. Pick selber wuszte schon, dasz auch Anthocyane in ähnlicher Weise reagieren, obgleich er sie nicht zu den Gerbstoffen rechnet.

Die von Overton (1899) [29]) benutzte Methode, die Gerbstoffe nachzuweisen, ist dem Verfahren der älteren Forscher weit überlegen. Er fällt die Gerbstoffe innerhalb der Zelle mittels einer Kaffein- oder Antipyrinlösung.

Seine Schluszfolgerungen sind aber dieselben wie diejenigen Picks: Bevor die Zellen rot werden, enthalten sie in reichlicher Menge den Gerbstoff. Auch in erwachsenen roten Zellen erzeugten die genannten Alkaloidlösungen eine Fällung. Diese unterscheidet sich von der soeben genannten in den jugendlichen Zellen nur durch die rote Farbe der kugligen Gebilde, aus denen beide Fällungen zusammengesetzt sind. Diese Befunde geben Overton Grund zu der Annahme einer nahen chemischen und physiologischen Verwandtschaft zwischen den Anthocyanen und den Gerbstoffen.

Reines Anthocyan wird aber von Kaffein oder Antipyrin nicht gefällt. Obgleich Overton dem Leser vom Gegenteil zu überzeugen versucht, hat er beide Malen Gerbstoffe nachgewiesen. Auch die zweite Fällung rührt von Gerbstoffen her; ihre Farbe verdankt sie nur der Absorbtion des Anthocyans.

Eigene Versuche ergaben, dasz die Gerbstoff-Alkaloidfällungen grosze Mengen Farbstoff aufzunehmen vermögen. Die Versuche Overtons beweisen also gar nicht, dasz die Anthocyane zu den Gerbstoffen in einem bestimmten Wechselverhältnis stehen, sondern vielmehr, dasz sie ganz gut in derselben Zelle neben einander vorkommen können.

Übrigens ist die Arbeit Overtons besonders dadurch bekannt geworden, dasz er die Anthocyane nicht als Oxydationsprodukte der Gerbstoffe, sondern als Glukoside betrachtet, welche aus irgend einem Zucker und einem Gerbstoff zusammengesetzt sind. Die Anthocyanbildung wird nämlich in vielen Pflanzen stark gefördert, wenn man ihre abgeschnittenen Organe (oder bei Wasserpflanzen auch die Pflanzen selbst) einige Tage auf einer Zuckerlösung aufbewahrt. Weshalb Overton in der Pflanze das folgende Gleichgewicht voraussetzt:

$$\text{Zucker} + \text{Gerbstoff} \rightleftarrows \text{Anthocyan}$$

Bezüglich des Gerbstoffes besitzen diese Versuche aber gar keine Beweiskraft, und für einen *derartigen* Einflusz des Zuckers auf den Prozess der Anthocyanbildung gibt es keinen nachweisbaren Grund.

Unabhängig von den genannten Forschern haben sich auch einige französische Untersucher bestrebt, Beziehungen zwischen den zwei Gruppen von Verbindungen wahrscheinlich zu machen.

A. Gautier (1878, 1892, 1906) [30-32]) versuchte die Farbstoffe aus den Häuten der Weintrauben rein darzustellen, was ihm sicherlich nicht gelungen ist. Ohne den geringsten Beweis gibt er an, dasz sie Oxydationsprodukte farbloser, tannoider Chromogene sind, welche sich wegen ihrer Oxydation an der Luft nicht aus der Pflanze extrahieren lassen. Diese tannoiden Substanzen sollen kurze Zeit vor der Fruchtreife aus den Blättern hinaus zu den Fruchthäuten hinüberwandern, wo sie sich oxydieren und in den Farbstoff umsetzen. Die folgenden Beobachtungen werden von Gautier zur Stützung dieser Ansichten herbeigeführt: Entblättert man einen Weinstock, deren Früchte der Reife nahe sind, so verschrumpeln die Trauben und bleiben grün. Unterbindet man die Blattstiele mit einem Faden, so färben sich die Blätter statt der Früchte rot, weil die Chromogene nicht auszuwandern vermögen und daselbst oxydiert werden. Aber im ersten Versuch kann von Lebensprozessen kaum mehr die Rede sein, weil die Früchte absterben. Und was den zweiten Versuch anbelangt, sei bemerkt, dasz das Abbinden der Blattstiele eine Verletzung ist, welche in vielen Fällen schon an und für sich ausreicht, die rote Farbe zum Vorschein zu bringen.

Mirande (1906, 1907) [33, 34]) beschäftigt sich mit der Anthocyanbildung, welche eine Folge der von Insekten verursachten Verletzungen ist. Er führt sie auf eine örtliche Anhäufung tannoider Körper, Zucker und Oxydasen zurück; pflichtet also der Theorie Overtons bei, und

nimmt auszerdem die Oxydation in seine Betrachtungen auf. Nähere Beweise fehlen ganz.

Laborde (1908) [35, 36, 37]) versucht in mehreren Weisen den Übergang Gerbstoff—Anthocyan herbeizuführen. Seine Resultate sind aber sosehr mit den gegenwärtigen chemischen Anschauungen im Widerspruch, dasz wir an seiner Arbeit vorübergehen können.

In den späteren Jahren ist die Frage nach den chemischen oder physiologischen Beziehungen zwischen den Anthocyanen und den Gerbstoffen etwas in den Hintergrund geraten. Durch die Fortschritte auf dem Gebiete der Gerbstoffchemie, die Entwicklung unserer Kenntnisse in der Flavongruppe und die Sicherstellung der Anthocyankonstitution wurde einerseits das Interesse der Forscher abgelenkt, während andererseits viele Angaben aus den älteren Arbeiten sich nicht länger stichhaltig zeigten.

Die Arbeit K. Peches (1913) [39]) „ist kaum als ein ernsthafter Versuch, das Problem zu lösen, zu betrachten" (Czapek [40]). Diese Kritik verdankt Peche seinen veralteten Arbeitsmethoden, weist er doch die Gerbstoffe noch mittels der Eisenchloridreaktion nach. Aus der Beobachtung, dasz die „eisengrünenden" Gerbstoffe sich durch Erwärmung mit Formol und Kalilauge blau färben, und aus der roten anthocyanartigen Farbe, in welche diese blaue Farbe sich nach Hinzufügung eines Tröpfchens irgend einer Säure ändert, schlosz er auf eine enge Beziehung zwischen den Anthocyanen und den Gerbstoffen. Es wird klar sein, dasz diese Weise die Frage zu lösen, sich gar nicht über die älteren Arbeiten hinaus erhebt.

Freudenberg (1920) [41]) hat nur eine chemische Verwandtschaft zwischen einer bestimmten Gerbstoffgruppe, den Phlorogluzingerbstoffen und der Anthocyan-Flavongruppe nachgewiesen.

Und Kurt Noack (1922) [42]) hebt besonders hervor,

dasz man seine chemische Betrachtungsweise in bezug auf die Gerbstoffe und die Anthocyane nicht ohne weiteres auf die Physiologie dieser Substanzen übertragen darf. Nur sagt er, dasz die Möglichkeit einer Umwandlung von bestimmten Gerbstoffen in Anthocyane bezw. Flavone von ihm nicht in Abrede gestellt wird.

Zusammenfassend schliesze ich also, dasz es weder in der alten, noch in der neuen Litaratur Gründe gibt, welche die Annahme einer physiologischen Beziehung zwischen den Anthocyanen und den Gerbstoffen auch nur einigermaszen rechtfertigen. Die Untersuchungen Overtons deuten vielmehr in die entgegengesetzte Richtung, indem es sich zeigte, dasz dieser Forscher Gerbstoffe nachzuweisen vermochte in anthocyanhaltigen Zellen. Auch die chemischen Beziehungen zwischen den beiden Klassen von Verbindungen sind vorläufig nicht im Stande die Hypothese eines physiologischen Zusammenhangs zu stützen.

§ 4. Die Anthocyane als Oxydationsprodukte.

Die in den vorangehenden Paragraphen besprochenen Theorien haben nicht nur historisches Interesse, sie bilden auch die Grundlage für die Entstehung neuerer Theorien. Wenn man die Frage nach der chemischen Natur des Chromogens einen Augenblick auszer Betracht läszt, so haben die älteren Theorien alle gemeinsam, dasz sie die Umwandlung: Chromogen — Anthocyan als eine Oxydation betrachten. Der Irrtum der Chromuletheorie in dieser Hinsicht wurde schon frühzeitig erkannt. Die Ansicht, die Anthocyane seien Oxydationsprodukte der Gerbstoffe, hat sich aber viel länger aufrecht erhalten, obgleich die experimentellen Daten, welche zu ihrer Stützung herbeigeführt wurden, durchaus unzulänglich waren. Schlieszlich gelangte man aber zu der Einsicht, dasz der Nachweis von Gerbstoffen eine recht schwierige Aufgabe sei, und dasz er in vielen Fällen nicht einwandfrei stattgefunden

habe. (Reinitzer, Beilstein, Dekker; siehe § 3). So blieben die Versuche, ein Chromogen des Anthocyans ausfindig zu machen, erfolglos, und aus diesem Miszerfolg ist es ohne Zweifel zu erklären, dasz im Anfang dieses Jahrhunderts eine neue Theorie vertreten wurde, welche sich in erster Instanz nicht mit der chemischen Natur des Chromogens beschäftigte, sondern mit seiner Umwandlung in den Farbstoff. In Hinsicht auf diese Umwandlung war die Theorie aber genau genommen gar nicht neu; betrachtet sie doch wieder diesen Übergang als einen Oxydationsvorgang. Dazu kommt noch, dasz mehrere ihrer Vertreter sich anfangs nur sehr wenig oder beiläufig bestrebten, neue Beweise für diese Oxydationshypothese beizubringen. Offenbar glaubte man, dasz die Arbeiten der älteren Forscher dazu ausreichten. Sofern haben die Anhänger der neuen Theorie, wenigstens anfangs, nur den Akzent verlegt vom Chromogen auf die Weise seiner Hinüberführung in den Farbstoff. Später wurden sie selbstverständlich auch zu der Forschung der chemischen Natur des Chromogens geführt, sind dabei aber zu recht verschiedenen und entgegengesetzten Resultaten geraten.

W. Palladin (1909) [43, 44]) ordnet die Anthocyane zu den sog. Atmungspigmenten. Die Anschauungen dieses Forschers in bezug auf den Atmungsvorgang lassen sich wie folgt kurz zusammenfassen: Er setzt in den Pflanzen die Anwesenheit ungefärbter Verbindungen aromatischen Charakters (Atmungschromogene) voraus, welche im Atmungsprozess die Rolle von Sauerstoffüberträgern machen. Im oxydierten Zustand sind sie durch eine dunkle Farbe gekennzeichnet (Atmungspigmente), aber normaler Weise gibt es in der Pflanze nur die Chromogene, weil sie sich nach der Sauerstoffaufnahme fast unmittelbar wieder desoxydieren, indem der Sauerstoff auf das Atmungsmaterial übertragen wird. In den ungekochten Extrakten

verschiedener Pflanzen aber oxydieren sich die Atmungschromogene, ohne dasz die gebildeten Pigmente sich wieder reduzieren; weshalb die Extrakte eine schwarze Farbe annehmen.

In gleicher Weise soll nun nach Palladin das Auftreten des Anthocyans in jugendlich und herbstlich roten Blättern erklärt werden. Die Oxydationsvorgänge sind in diesen Blättern so intensiv, dasz „die Pigmente der genannten Objekte nicht momentan wieder zu farblosen Chromogenen reduziert werden können". Es tritt Pigmentbildung auf, und das Pigment ist der bekannte rote Farbstoff Anthocyan. Der von Overton beobachtete Einflusz der Zuckerzugabe auf die Anthocyanbildung soll nach Palladin ebenso auf eine gesteigerte Atmungsintensität zurückzuführen sein.

Für die Ansicht, dasz die Anthocyane die Oxydationsprodukte farbloser Vorstufen seien, bringt Palladin keine weiteren Beweise bei. Er beruft sich dazu auf eine italienische Arbeit Buscalionis und Pollaccis, welche aber ebensowenig neue Gesichtspunkte eröffnet, und auf die im vorigen Paragraphen genannten Abhandlungen von Mirande und Overton. Es braucht deshalb nicht zu verwundern, dasz sich gegen die Anschauungen Palladins bald mehrere Einwände erhoben. So wurde z.B. von M. Wheldale mit Recht betont, dasz nach Palladin die von einer künstlichen Zuckerzugabe hervorgerufene Farbstoffbildung der Verschiebung eines reversibelen Gleichgewichts zu verdanken sei; eine einfache Beobachtung ergibt jedoch, dasz dieser Vorgang irreversibel ist. Auch dem in vielen Fällen beobachteten Einflusz des Lichtes auf die Anthocyanbildung wird in der Palladinschen Theorie kein Platz eingeräumt.

In bezug auf die unten genannten Anschauungen Wheldales sei noch bemerkt, dasz Palladin sich die Chromogene oft als Prochromogene, d.h. Verbindungen

der Chromogene mit irgend einem Zucker, in der Pflanze anwesend denkt. *)

Besonders in England hat diese Theorie viele Vertreter gefunden [48]. Zu der Ansicht, dasz es eine farblose Vorstufe des Anthocyans gebe, wurde man da ins besondere durch die Untersuchungen Wheldales bezüglich der Erblichkeitserscheinungen bei Anthirrhinum majus geführt; und daraus ist es wieder zu erklären, dasz die englischen Forscher sich fast immer mit dem Farbstoff aus den Blumen beschäftigt haben. Ohne weiteres darf man also ihre Resultate nicht zum Farbstoff der Vegetationsorgane ausdehnen, braucht doch die Bildungsweise des Farbstoffes nicht immer dieselbe zu sein.

Wenn man eine hellgelbe Varietät von Antirrhinum majus mit einer ganz weiszen kreuzt, so haben die Blumen der F_1 generation eine normale Anthocyanfarbe. Daraus schlieszt Wheldale, dasz für die Anthocyanbildung mindestens zwei Faktoren erforderlich sind.

Den ersten dieser Faktoren sucht sie in einem, in der hellgelben Varietät vorkommenden Pigment, das sie anfangs ein Xanthon- oder Flavonartiger Körper zu sein glaubte, aber später mit dem Flavon Apigenin identifizierte. Offenbar sind viele der älteren Angaben in Hinsicht auf das Vorkommen von Gerbstoffen auf die Anwesenheit dieser Flavone in der Zelle zurückzuführen. Und es ist zweifelsohne das Verdienst Wheldales, darauf die Aufmerksamkeit der Physiologen gelenkt zu haben. Leider zeigt sie sich in ihrer weiteren Betrachtungsweise ganz eine Vertreterin der älteren Anschauungen, indem sie das folgende Schema in Bezug auf die Bildungsweise des Anthocyans voraussetzt:

1) Glukosid + Wasser ⟶ Chromogen + Zucker
2) Chromogen + Sauerstoff ⟶ Anthocyan

*) Siehe auch S. 390.

Nach Wheldale gibt es also in der Pflanze ein Chromogen, das sich durch Oxydation in ein Anthocyan umwandelt. Das Chromogen ist aber nicht als solches anwesend, sondern in Verbindung mit irgend einem Zucker, d.h. als Glukosid. In dieser Form ist es jedoch nicht oxydationsfähig, dazu musz zuvor eine Hydrolyse stattfinden.

Der zweite der obengenannten Faktoren soll nach Wheldale das Enzym sein, das bei dieser Zuckerabspaltung bezogen ist.

Es war dies wenig mehr als eine Hypothese, zu deren Unterstützung nach Wheldale die Ergebnisse der obengenannten Erblichkeitsversuche nur bis zu einem gewissen Grade befähigt sind. Auch die von Wheldale angeführte Analogie mit der Bildungsweise anderer Farbstoffe — z.B. Indigo — vermag kaum etwas über die Richtigkeit des obenstehenden Schemas auszusagen. Weiter beruft Wheldale sich auf eine von mehreren Forschern gemachte Beobachtung [49-52]), dasz nämlich die Pflanzen sich nie rot färben, falls sie den Sauerstoff entbehren. Solange wir aber nichts weiteres wissen in bezug auf die chemischen Prozesse, welche sich an der Anthocyanbildung beteiligen, wäre es doch wohl sehr verfrüht, nur auf Grund dieser Beobachtung der Oxydationstheorie beizupflichten.

Die Notwendigkeit einer der Oxydation vorangehenden Zuckerabspaltung wurde von Willstätter fraglich gemacht [53]), indem er einwandfrei nachwies, dasz der rote Farbstoff fast immer an irgend einem Zucker gebunden — d.h. als Glukosid — in der Pflanze vorkommt. Wheldale erwiderte darauf, dasz vielleicht in der ersten Reaktion nur ein Teil des Zuckers abgespalten werde, wodurch auch das Chromogen und sein Oxydationsprodukt den Glukosidcharakter beibehalten würden. Zu einer derartigen Voraussetzung fehlt aber jeder experimentelle Grund.

Keeble und Armstrong (1912) [54, 55]) haben in einer

ganz andern Weise die Anschauungen Wheldales zu begründen versucht. Sie glaubten nämlich, dasz sich in den Blumenblättern von Primula sinensis eine gewisse Übereinstimming in der Lokalisierung der Anthocyane und der Oxydasen nachweisen liesze. Eine ähnliche Angabe findet sich in den späteren Jahren (1922) bei Mirande [56]. Atkins (1913, '14, '15) [57]) konnte jedoch die Ergebnisse der Versuche seiner Landsleute nicht genügend bestätigen; auch von Wheldale wurde der Wert und die Richtigkeit dieser Untersuchungen in Zweifel gezogen.

Schlieszlich sei bemerkt, dasz die Entfärbung des Anthocyans im neutralen Milieu nicht von einer Reduktion des Farbstoffes herrühre, wie Keeble, Armstrong und Jones angaben (1913) [58]), sondern nur eine reversible Isomerisation darstellt, was von Willstätter einwandfrei bewiesen wurde.

Willstätter reduzierte das Flavon Quercetin zum Anthocyan Cyanin, und stellte damit die Beziehungen, welche es zwischen den beiden Gruppen von Verbindungen gibt, sicher (1914) [59]). Die Reduktion ergab aber nur eine winzige Menge des Farbstoffes, wodurch Wheldale von der Unrichtigkeit ihrer Anschauungen nicht überzeugt wurde. Noch in der letzten Auflage ihrer Monografie (1925) beharrt sie bei der Meinung, dasz die Anthocyane in der Pflanze durch einen Oxydationsvorgang aus ihren Chromogenen (Flavonen) hervorgehen.

Zweifelsohne hat Wheldale recht, wenn sie behauptet, dasz sich aus den Versuchen Willstätters ohne weiteres noch nicht ergibt, dasz die im Reagenzglas herbeigeführte Umwandlung Querzetin — Cyanin sich auch innerhalb der Zelle vollziehe. Andererseits aber musz bemerkt werden, dasz es im Lichte unserer heutigen Kenntnisse doch wohl sehr schwierig ist, die Anthocyane noch als die Oxydationsprodukte der Flavone zu betrachten.

Die Theorie, nach welcher die Anthocyane die pflanzlichen Oxydationsprodukte der Flavone oder auch eines andern Chromogens seien, ist aus der Geschichte der Anthocyanforschung leicht zu erklären. Es musz leider gesagt werden, dasz jeder experimentelle Beweis zu ihren Gunsten fehlt, und in sofern steht sie weit hinter der im folgenden Paragraphen besprochenen Betrachtungsweise zurück.

§ 5. Die Anthocyane als Reduktionsprodukte.

Die Voraussetzung der in dem vorigen Paragraphen genannten Forscher, nach welcher die Anthocyane die direkten Oxydationsprodukte eines Chromogens seien, hat sich also — wegen des fast absoluten Mangels an experimentellen Stützen — noch nicht zur Höhe einer Arbeitshypothese hinaufzuarbeiten vermocht. Demgegenüber hat sich aber in den späteren Jahren ein neuer Gedankengang in bezug auf die Anthocyanbildung in der Pflanze entwickelt, nach welchem die Anthocyane nicht als die Oxydations-, sondern als die Reduktionsprodukte einer sehr bestimmten und genau angedeuteten Gruppe pflanzlicher Verbindungen betrachtet werden. Es war schon längst bekannt, dasz die Flavone im Pflanzenreich überaus verbreitete Stoffe sind. Obgleich die chemische Struktur des Chromogens in der Oxydationstheorie nicht die erste Stelle einnimmt, verdankt die Anschauungsweise Wheldales ihr Entstehen doch zum Teil der Anwesenheit dieser Flavone in der Zelle. Die Struktur dieser Verbindungen ist besonders durch die Arbeiten Kostaneckis am Ende des vorigen und im Anfang dieses Jahrhunderts sichergestellt. Als nun von Willstätter und schon früher von Combes und Everest gezeigt wurde, dasz man in vitro die Anthocyane durch Reduktion aus den Flavonen erhalten kann, so haben sich seitdem immer mehr Forscher bestrebt, die Existenz eines solchen Reduktionsvorganges auch in der Pflanze ausfindig zu machen.

Um zu einer einwandfreien Lösung dieses Problems zu geraten, haben nur wenig Forscher versucht, den Beweis zu liefern, dasz ein Anthocyan und ein Flavon, welche sich in chemischer Hinsicht nur durch die Oxydationsstufe von einander unterscheiden, ihr Vorkommen innerhalb derselben Pflanze miteinander abwechseln.

In dieser Weise hat z.B. Combes (1913, '14) [61-63]) die Frage in Angriff genommen. Aus den im Sommer grünen Blättern von Ampelopsis hederacea isolierte er ein gelbes und aus den herbstlich roten Blättern derselben Pflanze ein rotes Pigment. Den ersten Farbstoff hielt er für ein Flavon, den zweiten glaubte er ein Anthocyan zu sein. Beide Verbindungen wurden mittels der Bestimmung des Schmelzpunktes identifiziert. Combes gibt nun an, dasz man das Flavon durch Reduktion mit Salzsäure und Natriumamalgam in das Anthocyan umwandeln kann, dagegen soll Wasserstoffsuperoxyd die entgegengesetzte Umwandlung herbeiführen, wenn es zu einer Lösung des Anthocyans hinzugefügt wird.

Es ist aber sehr fraglich, ob die Verbindungen mit welchen Combes gearbeitet hat, tatsächlich rein gewesen sind. Von einem Schmelzpunkt der Anthocyane ist in den klassischen Untersuchungen Willstätters nirgendwo die Rede; jedenfalls reicht eine Schmelzpunktbestimmung zur Identifizierung dieser unter einander so ähnlichen Farbstoffe ebensowenig aus, wie die Angaben einiger Analysenzahlen in einer späteren Abhandlung von Combes [75]). Auch hat P. Karrer neuerdings die Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf die Anthocyane einer eingehenden Untersuchung unterworfen (1927) [64]); dabei kam er aber zu ganz andern Resultaten als Combes.

Man kann also den Arbeiten dieses Forschers nur einen geringen Wert beilegen, was um so mehr zu bedauern ist, weil die einwandfreie Lösung des Problems in dieser Weise weder Perkin noch Everest gelungen ist.

A. G. Perkin (1918) [65]) isolierte aus den Blumen von Delphinium consolida und Viola tricolor die Glukoside einiger Flavone; sie stimmten aber in ihrer Struktur nicht mit den von Willstätter in diesen Pflanzen aufgefundenen Anthocyanen überein. Das Vorkommen mehrerer Flavone und Anthocyane in derselben Pflanze darf aber nicht ausgeschlossen sein, und solange die diesbezüglichen Untersuchungen nicht erheblich ausgedehnt werden, ist aus den Beobachtungen Perkins keine allgemeine Schluszfolgerung zu ziehen.

Aus den Blumen einer Art *Viola* isolierte A. E. Everest (1918) [66]) das von Willstätter eingehend beschriebene Violanin. Mittels qualitativer Reaktionen versuchte er darzutun, dasz ein aus derselben Pflanze von ihm erhaltenes Rohpräparat Myricetin (das übereinstimmende Flavon) enthielt. Zu einer Isolierung dieser Stoffe ist er aber nicht geraten, und auch diese Arbeit weist also noch grosze Lücken auf.

Wegen der Schwierigkeiten, welche mit der Isolierung und Reindarstellung der betreffende Stoffe verknüpft sind, haben die meisten Forscher sich auf ein Arbeiten mit den Extrakten gelegentlich roter Pflanzen beschränkt. Dabei ist aber auf die Isolierung der einzelnen Farbstoffe zu verzichten; höchstens kann man in dieser Weise sich vorstellen, dasz es physiologische Beziehungen zwischen der *Gruppe* der Anthocyane und der *Gruppe* der Flavone gibt.

Für den Nachweis von Flavonen in einer Lösung sind zwei Methoden verwendbar:

1. Nach Hinzufügung von etwas Ammonia färbt sich die Flüssigkeit stark gelb.
2. Wenn man die Lösung mittels Salzsäure und Natriumamalgam reduziert, oder auch mittels Salzsäure und Zink, nimmt sie eine schöne rote, anthocyanartige Farbe an.

Obgleich die Anwesenheit der gelben Farbstoffe beim positiv Ausfallen dieser Reaktionen ziemlich wahrscheinlich ist, so musz doch bemerkt werden, dasz uns über die Chemie dieser Proben nichts bekannt ist; und man kann doch immer den Einwurf machen, dasz vielleicht auch andere, den Anthocyanen und den Flavonen in ihrer chemischen Struktur nahe verwandte Verbindungen — denn um solche handelt es sich hier doch immer — im Stande sind ähnliche Reaktionen zu geben.

Bezüglich der zweiten Reaktion wurde von Willstätter (1914) [67]) dargetan, dasz die Reduktion Querzetin ⟶ Cyanin gar nicht quantitativ verläuft. Denn erstens findet man einen Teil des Flavons unverändert in der Lösung wieder; und weiter wird neben dem Anthocyan ein zweiter, besonders in saurer Lösung unbeständiger Stoff gebildet, das Allocyanidin. Spätere Forscher — Everest und Noack — haben diesem Befund widersprochen, aber sie unterlieszen den einzigen zuverlässigen Beweis zur Sicherstellung ihrer Angaben: die Reindarstellung der betreffenden Stoffe.

Aus dem Obenstehenden folgt, dasz man die genannten Reaktionen nur mit dem nötigen Vorbehalt zum Nachweis von Flavonen in einem Pflanzenorgan benutzen kann. Das Problem ist in dieser Weise nur zum Teil zu lösen.

Keeble, Armstrong und Jones (1913) [68]), welche Forscher im vorigen Paragraphen als Vertreter der Anschauungen Wheldales genannt wurden, gaben im Jahre 1913 an, dasz die Extrakte der Blätter vieler gelben Blumen nach der Reduktion mit Salzsäure eine rote Farbe erhalten. Setzt man die Reduktion weiter fort, so entfärbt sich die Lösung wieder; jedoch kehrt die Farbe beim Aufbewahren an der Luft bald wieder zurück. Sie schlossen daraus, dasz die benutzten Extrakte ein Flavon enthielten; dasz dieses Flavon anfangs zu einem Anthocyan reduziert wurde,

und bei der weiteren Reduktion in irgend eine farblose Verbindung überging, indem dieser letzte Stoff sich nach kurzer Zeit wieder in das Anthocyan umwandelte. Daneben folgerten sie, dasz die Bildung des roten Farbstoffes in der Pflanze in ganz derselben Weise stattfinden würde. Ohne mich mit der Richtigkeit ihrer Erklärungsweise näher zu befassen, sei hier nur bemerkt, dasz es gar nicht erlaubt ist, jede im Reagenzglas beobachtete Reaktion ohne weiteres auf die Pflanze zu übertragen.

An zweiter Stelle ist in diesem Zusammenhang eine Arbeit von A. E. Everest (1914) [69]) zu nennen. In bezug auf die Anschauungen Wheldales wurde von diesem Forscher besonders auf den Nachweis, dasz es sich hier um eine Reduktion und nicht um eine Oxydation handelt, hingezielt. Dieser Reduktionsvorgang, durch welchen die Extrakte vieler Pflanzen eine rote Farbe annehmen, kann in verschiedenen Weisen herbeigeführt werden: Entweder durch die Elektrolyse, oder auch durch die Hinzufügung einer Säure zusammen mit Zn, Mg oder Natriumamalgam.

Shibata und seine Mitarbeiter haben die Reduktionstheorie zu verallgemeinern versucht, indem sie die Versuche zu den Extrakten zahlloser Pflanzen, welche zur Anthocyanbildung befähigt sind, ausdehnten [70]). Immer wieder beobachteten sie eine rote Farbe nach der Reduktion, und ebenso wies in jedem dieser Fälle die nichtreduzierte Flüssigkeit eine gelbe Farbe auf, wenn sie mit Ammonia versetzt wurde.

K. Noack [71, 72]) verdanken wir zwei eingehende Abhandlungen über die physiologische Bedeutung des Anthocyans. Indem er den Befund Willstätters, dasz die Anthocyane sich in ihrer Löslichkeit in Amylalkohol von den Anthocyanidinen unterscheiden, auch zu der Flavongruppe ausdehnte, kam er zu der Schluszfolgerung, dasz die Anthocyane und Flavone, welche in derselben Pflanze

nebeneinander vorkommen, in ihrer Glukosidstufe miteinander übereinstimmen. Das bedeutet, dasz in einer Pflanze, welche ein Flavondiglukosid, bezw. monoglukosid enthält, das Anthocyan auch gebunden an zwei Moleküle, bezw. ein Molekül Zucker vorkommt. Auszerdem glaubt Noack zu verschiedenen Zeiten in Polygonum compactum Hook. die Anwesenheit der farblosen Pseudobase des Anthocyans dargetan zu haben; erhalten doch die Extrakte dieser Pflanze schon lediglich nach einer kurzen Erwärmung mit Salzsäure eine rote Farbe. Noack betrachtet diese Verbindung als eine Zwischenstufe in der Umwandlung Anthocyan-Flavon; auch soll sie nach ihm vielleicht eine Rolle spielen bei der Anthocyansynthese in jugendlichen Blättern.

Combes (1922) [73-75]) hat aber diese rote Farbe in Rechnung der sogenannten Phlobaphene gestellt; das sind Stoffe, welche durch Erwärmung mit Salzsäure aus den Phlobatanninen hervorgehen und einige Eigenschaften mit den Anthocyanen — z.B. die rote Farbe — gemeinsam haben. Damit ist aber wieder der schwache Punkt der in diesem Paragraphen besprochenen Theorie berührt. Es ist heutzutage nicht mehr gestattet, jede rote anthocyanartige Farbe als von einem Anthocyan herrühend zu betrachten. Und obgleich die obengenannten Forscher die Bildung von Anthocyanen aus den Flavonen in der Pflanze ziemlich wahrscheinlich gemacht haben, so kann man doch zusammenfassend schlieszen, dasz eine nähere Identifizierung der im Pflanzenreich vorkommenden anthocyanartigen Farbstoffe und ihrer Chromogene wohl sehr erwünscht ist.

III. ABSCHNITT.

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN DEN ANTHOCYANEN UND DER KOHLENSÄUREASSIMILATION.

§ 1. Historisches.

In dem zweiten Abschnitt wurde dargetan, dasz man die Anthocyane im Laufe der Jahre fast immer entweder als die Oxydations- oder als die Reduktionsprodukte irgend eines Chromogens betrachtet hat. Zweifelsohne ist es dieser Anschauungsweise grösztenteils zu verdanken, dasz man vielfach versucht hat, Beziehungen zwischen der Anthocyanbildung und andren Oxydations- oder Reduktionsvorgängen, namentlich der Atmung und der Assimilation, ausfindig zu machen. Andererseits ist auch der grosze Einflusz Senebiers als eine Ursache zu nennen, wodurch viele Forscher sich mit dem Gaswechsel anthocyanhaltiger Blätter beschäftigt haben; glaubte doch dieser Forscher, dasz den roten Blättern die Fähigkeit, Sauerstoff auszuhauchen, abgeht. (II Abschnitt, § 1). Und schlieszlich gibt es noch einen dritten Faktor, welcher zu einer Forschung auf diesem Gebiete anregte. Sobald man die Abhängigkeit der Assimilationsintensität von der Wellenlänge des Lichtes kennen lernte, war damit auch die Frage nach einem etwaigen physikalischen Einflusz des Anthocyans auf den Assimilationsprozess gestellt. Werden auch etwa durch den roten Farbstoff Strahlenbezirke absorbiert, welche für eine normale Assimilation unentbehrlich sind?

Die experimentellen Methoden, welche man zur Lösung dieses Problems benutzt hat, sind fast nie einwandfrei gewesen, in vielen Fällen waren sie sogar sehr mangelhaft. So versteht es sich, dasz die verschiedenen Forscher zu ebensovielen verschiedenen Schluszfolgerungen gerieten, und dasz man die Beantwortung der Frage nach den Beziehungen zwischen dem Gaswechsel einerseits und den

Anthocyanen andererseits auch heute noch vielfach dahingestellt sein läszt.

Die entgegengesetzten Ansichten Senebiers und de Saussures wurden im Jahre 1863 in einer kurzen, jedoch scharfen Diskussion von zwei französischen Botanikern, Corenwinder und Cloez, aufs neue vertreten, [76, 77, 78]). Biede Forscher machten einen Vergleich zwischen der Assimilation der roten und der grünen Varietäten verschiedener Pflanzen. Und obgleich besonders die von Cloez benutzte Methode sehr primitiv war, stimmten die Ergebnisse ihrer Versuche ganz gut miteinander überein: sie konnten keine Unterschiede in der Assimilation der beiden Varietäten nachweisen.

Durch diese Beobachtung wurden sie aber nicht zu derselben Schluszfolgerung geführt. Cloez glaubte mit seinen Versuchen dargetan zu haben, dasz die Kohlensäureassimilation und das Anthocyan zwei von einander ganz unabhängige Sachen seien. Corenwinder konnte dieser Meinung aber gar nicht beipflichten. Es war ihm bekannt, dasz die roten Varietäten neben dem Anthocyan auch Chlorophyll enthalten; diesem Umstand zufolge hielt er es für eine Unmöglichkeit, zu entscheiden, wie grosz der Einflusz der beiden Farbstoffe auf den Assimilationsvorgang sei. Die ganz besondere Bedeutung des Chlorophylls für den Stoffwechsel durchschaute er also gar nicht.

Im übrigen hat diese Diskussion wenig mehr als einen historischen Wert.

Th. W. Engelmann (1887) [79]) beobachtete, dasz die Purpureavarietäten den grünen Stammformen in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit gar nicht nachtstehen, und dasz weder „der Gehalt an Chlorophyllkörnern, noch deren Form, Grösze, Anordnung, irgend welche konstante Beziehung zur Rotfärbung aufweisen". Er schlosz daraus, dasz die Lichtabsorbtion des Anthocyans nur diejenigen Strahlen betrifft, welche für die Assimilation die geringste

Bedeutung haben". Eine spektroskopische Beobachtung vermag nach Engelmann diese Angaben zu bestätigen, fand er doch, dasz die Absorbtionsspektra des Anthocyans und des Chlorophylls nahezu komplementär sind.

Assimilationsmessungen hat er nicht angestellt, und man darf also die Bedeutung dieser Angaben nicht überschätzen; andererseits wird es sich weiter unten zeigen, dasz die Anschauungen Engelmanns ganz richtig waren.

Bevor wir uns den Arbeiten späterer Forscher zuwenden, musz bemerkt werden, dasz sie sich, zur Bestimmung der Assimilationsleistung der Blätter fast immer einer sehr fehlerhaften Methode bedienten, indem sie das Versuchsmaterial unter einer Glasglocke der Einwirkung des Sonnenlichtes aussetzten, und das Gas innerhalb der Glocke vor und nach dem Versuch analysierten. Von Kreusler wurde aber schon im Jahre 1887 [80]) die sog. Durchströmungsmethode zur quantitativen Bestimmung der Assimilation ausgearbeitet. Er brachte die Blätter in einen abgeschlossenen Raum, und bestimmte die vom Blatt aufgenommene Menge Kohlensäure. In einem der folgenden Paragraphen komme ich ausführlich auf die Vorteile dieser Methode zurück, aber es wird auch ohne weiteres klar sein, dasz sie dem obengenannten Verfahren weit überlegen ist. Trotzdem hat sich auszer Willstätter kein Forscher dieser Methode—wenn es Assimilationsmessungen an roten Blättern galt — bedient.

H. Jumelle (1890) [81]) bestimmte, ähnlich wie Corenwinder und Cloez, die Assimilationsintensität der roten und grünen Varietäten derselben Art. Gerade im Gegensatz zu diesen Forschern kam er zu der Schluszfolgerung, dasz die ersteren in derselben Zeit *viele* Male weniger Kohlensäure zerlägen als die letzteren. Auch behauptete er (man vergleiche diese Angabe mit derjenigen Engelmanns), dasz man in jedem Garten beobachten könne, wiesehr die roten Varietäten den grünen in ihrer Ent-

wicklung nachständen. Die Arbeit Jumelles ist aber in vielen Hinsichten sehr fehlerhaft, und man kann ihr kaum einigen Wert beilegen. Als Versuchsmaterial benutzte er in mehreren Fällen ganze Äste, oder auch ganz junge, zwei Jahre alte Bäumchen. Das Gewicht der zerlegten Menge Kohlensäure bezog er auf das Trockengewicht der Blätter. Angaben in bezug auf den Chlorophyllgehalt und das Alter der benutzten Pflanzen, oder auch über die Umstände, unter welchen er experimentierte, fehlen ganz.

Weit besser, obgleich ebensowenig einwandfrei, ist eine eingehende Abhandlung von Ed. Griffon [82]) aus dem Jahre 1899. Das Verdienst seiner Arbeit liegt besonders in der Tatsache, dasz er den anatomischen Bau und den Chlorophyllgehalt des Versuchsmaterials berücksichtigte. Die Angaben über niedrige Assimilationswerte der anthocyanhaltigen Varietäten gewöhnlich anthocyanfreier Pflanzen konnte er nur in dem Falle bestätigen, dasz die Blätter der ersteren weniger und heller gefärbte Chlorophyllkörner enthalten als die letzteren; oder wenn sie eine geringere anatomische Entwicklung zeigen. Gibt es solche Unterschiede im Blattbau nicht, so ist auch die von den zwei Formen pro Stunde und pro cm^2 Blattoberfläche zerlegte Menge Kohlensäure dieselbe. So kam er zu der Schluszfolgerung, dasz die vielfach beobachtete wenig intensive Assimilation der roten Varietäten nicht dem Anthocyan, sondern dem geringeren Chlorophyllgehalt zu verdanken sei:

> „L'anthocyane ne parait n'exercer, par les radiations
> „qu'elle absorbe, aucune influence sur l'intensité....
> „de l'assimilation chlorophyllienne.

Auch bei den jugendlich roten Blättern und bei im Herbste anthocyanhaltigem Laub soll — nach Griffon — die niedrige Intensität der Assimilation vom nicht normalen Chlorophyllgehalt herrühren.

Combes [83, 84, 85]) hat sich ebensowenig der Durchströmungsmethode bedient, als er im Jahre 1910 das Problem in Angriff nahm. Es steckt aber in seiner Arbeit noch ein zweiter Fehler. Die Bildung des Anthocyans ist in der Pflanze fast immer mit anderen Erscheinungen verknüpft. Bald sind diese normal, bald werden sie von auswendigen Ursachen hervorgerufen. Zu jenen rechne ich: die Jugend oder das Alter; zu diesen: eine Verletzung oder die sog. Zuckerernährung. Wenn man den Gaswechsel roter Blätter, oder allgemeiner roter Pflanzenorgane, bestimmt, so musz man sich immer fragen, ob eventuelle Abweichungen in der Intensität des Assimilations- oder Atmungsprozesses von der Anwesenheit des Anthocyans herrühren oder ob sie auch anderen Faktoren zu verdanken sind. So findet Combes z.B. für die Assimilation roter, von Insekten verletzten Blätter von Rumex crispus 0.0187, und für diejenigen der normalen, unverletzten Blätter derselben Pflanze 0.0361. (g pro Stunde und pro cm^2 Blattoberfläche). Solche Beobachtungen haben aber für die Lösung des Problems nur einen sehr geringen Wert, weil man gar nicht entscheiden kann, wie grosz der Einflusz der Verletzungen an und für sich schon auf den Assimilationsvorgang ist. Die weitgehenden Schluszfolgerungen Combes:

„L'apparition de l'anthocyane est correlative d'une „accumulation d'oxygène dans les tissus; sa disparition „est accompagnée d'une perte notable d'oxygène...."

und:

„Il semble, que la production d'anthocyane soit „intimement liée au phénomène de l'assimilation...."

werden von seinen Versuchen nicht genügend gestützt.

Die Erklärung für die beobachteten Erscheinungen sucht Combes besonders in einer — schon früher von

ihm aufgewiesenen — erhöhten Zuckerkonzentration anthocyanhaltiger Organe.

Eine — in methodischer Hinsicht — Sonderstelle nimmt die Arbeit W. Plesters (1912) ein [86]). Dieser Forscher machte nach der Methode von J. Sachs mehrere Assimilationsbestimmungen an „Varietäten derselben Art, welche sich durch ihre Blattfarbe unterscheiden". In seiner Arbeit wurde besonders auf die Beantwortung der Frage nach dem Verhältnis zwischen dem Chlorophyllgehalt der Blätter und ihrer assimilatorischen Leistungsfähigkeit hingezielt; in dieser Hinsicht konnte Willstätter *(Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure,* S. 118 ff.) die Angaben Plesters aber gar nicht bestätigen. In bezug auf die Assimilationsleistung der roten Blätter gibt Plester an, sie sei bei den roten Varietäten immer geringer als bei den grünen. Es ist aber sehr fraglich, ob diese Arbeit für die Lösung des in diesem Paragraphen angefaszten Problems einige Bedeutung habe. Von Willstätter wurde schon dargetan, dasz die Methode, deren Plester sich bei seinen Untersuchungen bedient, gar nicht einwandfrei ist. Ich möchte hinzufügen, dasz die roten und die grünen Blätter, welche Plester in bezug auf ihre Fähigkeit zur Photosynthese vergleicht, sich nicht nur durch ihren Anthocyangehalt voneinander unterscheiden. Plester gibt schon an, dasz ihr Chlorophyllgehalt nicht derselbe ist; aber besonders die Tatsache, dasz es Blätter von zwei verschiedenen Varietäten sind, macht es unmöglich zu entscheiden, welcher Teil des Unterschiedes in der Assimilationsintensität dem Anthocyan zu verdanken sei.

In der schönen Arbeit Willstätters: *Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure* [87]) findet sich auch eine vereinzelte Beobachtung in bezug auf die Assimilationsleistung roter Blätter. Seine Versuche wurden im Frühjahr, mit den Blättern einer normal grünen und tief-

roten Form von Acer pseudoplatanus ausgeführt; das Versuchsmaterial stimmte in seiner Entwicklungsstufe gut überein.

Eine Zusammenfassung seiner Ergebnisse findet man in der folgenden Tabelle:

TABELLE 1.

Assimilationsleistung normal grüner und roter Blätter von Acer pseudoplatanus (nach R. Willstätter)

Nr. des Versuches Datum Aussehen der Blätter	1 5/5 bräunl.-grün	2 14/5 rein-grün	3 8/5 tief-rot	4 18/5 tief-rot
Chlorophyllgehalt, pro 1 dm^2 ..	2.1	2.0	1.3	1.2
Stündliche Assimilation (g)				
a) Von 10 g frischen Blättern .	0.091	0.200	0.097	0.117
b) Von 1 g Trockengewicht .	0.035	0.078	0.022	0.107
c) Von 1 dm^2 Blattfläche	0.017	0.022	0.012	0.013
d) Von 1 g Chlorophyll (= Assimilationszahl) ..	8.6	10.7	9.5	11.2

Aus den Versuchen 1 und 3, welche „eine weitgehende Übereinstimmung zeigen, sowohl in den Chlorophyllgehalten als auch in den Assimilationsbeträgen", folgert Willstätter, „dasz der Anthocyangehalt ohne direkten Einflusz auf die Assimilationstätigkeit ist". Die niedrigen Werte des vierten Versuches im Vergleich zu denen des zweiten verdankt er nicht dem Anthocyan, sondern einem (zufälligen) Zurückbleiben der Chlorophyllbildung in den sich so schnell entwickelnden jugendlichen Blättern.

Obgleich diese Angaben — ihrer geringen Zahl wegen — zur Lösung des Problems in seinem ganzen Umfang nicht ausreichen, so werden doch durch diese methodisch einwandfreien Untersuchungen mehrere der obengenannten

Ergebnisse sehr fraglich gemacht. Andererseits schlieszen sie die Notwendigkeit einer näheren Forschung nicht aus. Von Willstätter wurden zu seinen Versuchen zwei verschiedene Varietäten (eine rote und eine grüne) benutzt; auch andere Forscher verfuhren in derselben Weise; wo möglich soll man aber die Assimilation der roten und grünen Blätter derselben Pflanze vergleichen. Diese Aufgabe ist jedenfalls bei Acer pseudoplatanus sehr gut ausführbar.

Ungeachtet dieser Versuche Willstätters wurde von Kurt Noack [88]) in einer seiner schon mehrfach genannten Abhandlungen wieder eine enge Beziehung zwischen den Anthocyanen und der Assimilation vertreten (1922). Seine Anschauungen tragen aber, soweit es der Assimilation galt, einen rein theoretischen Charakter, was bei dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse nicht ohne Bedenken ist. Solange wir bezüglich der Bildungsweise der roten Farbstoffe noch so wenig wissen, wie es jetzt der Fall ist, ist der Physiologie mehr mit einer experimentellen Forschung als mit einer theoretischen Betrachtung geholfen.

Im lezten Paragraphen des vorigen Abschnitts wurde dargetan, dasz Noack, aus mehreren Gründen, ein abwechselndes Vorkommen der Anthocyane und der übereinstimmenden Flavone in der Pflanze voraussetzt. Diesem Gleichgewichte soll nun nach Noack eine wichtige Rolle im Assimilationsprozesse zufallen; analog derjenigen, welche im Atmungsvorgang das System Atmungschromogen—Atmungspigment spielt. Der beim Zerlegen der Kohlensäure freiwerdende Sauerstoff wird nach den Anschauungen Noacks auf das Anthocyan übertragen, das sich dadurch in das übereinstimmende Flavon umwandelt:

$$CO_2 \longrightarrow C + O_2 \ldots\ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

$$O_2 + \text{Anthocyan} \longrightarrow \text{Flavon} \ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

Das Flavon reduziert sich zu Anthocyan und der Sauerstoff entweicht;

$$\text{Flavon} \longrightarrow \text{Anthocyan} + O_2 \ldots\ldots\ldots \quad (3)$$

In ausgewachsenen Blättern ist die Geschwindigkeit der beiden ersten Reaktionen derjenigen der dritten weit überlegen, deshalb ist das System Flavon—Anthocyan ganz auf die linke Seite verschroben. Wenn aber die Assimilation aus irgend welchen Gründen nur einen geringen Wert aufweist, so ist das Umgekehrte der Fall und das Flavon im Blatt verwandelt sich zum kleineren oder gröszeren Teil in das Anthocyan. Nach dieser Voraussetzung gibt es also keinen Einflusz des Anthocyans auf den Assimilationsprozess, sondern sind umgekehrt die verschiedenen Fälle, in welchen man eine Anthocyanbildung beobachtet (Jugend, Alter, Zuckerernährung, Verletzung) auf eine niedrige Chlorophylltätigkeit zurückzuführen.

Es lassen sich gegen eine solche Theorie, welche das Anthocyan in eine enge physiologische Beziehung zum Chlorophyll bringt, zum Teil dieselben Einwände erheben, wie gegen die Chromuletheorie, welche eine chemische Verwandtschaft zwischen den beiden Farbstoffen voraussetzte. Schon Noack selber hat dies gefühlt. So ist es z.B. nicht deutlich, weshalb das Anthocyan, wenn es eine so allgemeine und wichtige Funktion im Stoffwechsel erfüllt, dann nicht in jeder Pflanze vorkomme. Auch die verschiedene Lokalisierung des Anthocyans und des Chlorophylls bietet nicht geringe Schwierigkeiten. Dasz die jede Nacht wiederkehrende Assimilationssistierung keine Rötung zur Folge hat, wird von Noack aus dem Umstand erklärt, dasz die Reduktion Flavon-Anthocyan ein photochemischer Prozess ist, und nur im Licht stattfinden kann.

Es hat aber wenig Sinn, sich eingehend mit den vielen Bemerkungen, welche man hinsichtlich dieser Theorie Noacks machen kann, zu beschäftigen. Die Lösung des Problems ist in dieser Weise nicht zu erhalten; dazu braucht es eine eingehende *experimentelle* Forschung über die Assimilation roter Blätter. Eine solche wurde in den

letzten Jahren im *Planten-Physiologisch Laboratorium* der *Universität Amsterdam* angestellt; ihre Besprechung findet in den nachfolgenden Paragraphen statt.

§ 2. Methodisches über die Assimilationsbestimmungen.

Für die Lösung der gestellten Aufgabe wäre es am besten, wenn man die Blätter unter möglichst natürlichen Verhältnissen assimilieren liesze. In dieser Weise arbeitend, hat z.B. S. Kostytchew in den letzten Jahren zahlreiche Assimilationsbestimmungen unternommen. Wenn man aber zu seinem Versuchsmaterial bald die Blätter eines hohen Baumes, und bald diejenigen eines niedrigen Strauches oder auch eines krautartigen Gewachses braucht, ist selbstverständlich auf die Anwendung dieses Verfahrens, wozu doch immer eine ziemlich grosze Apparatur erforderlich ist, zu verzichten. Aus diesem Grunde haben wir die Assimilation der verschiedenen roten und grünen Blätter unter künstlich hergestellten Bedingungen beobachtet. Wir haben uns dabei im groszen ganzen der schönen Methode Willstätters bedient. Dieselbe wurde später von M. Geiger (1928) [89]) einer kritischen Untersuchung unterworfen; sie hat sich für das Ziel unserer Forschungen sehr gut bewährt. Für eine eingehende Beschreibung dieser Methode sei auf die diesbezüglichen Arbeiten der genannten Autoren hingewiesen. Die nachstehende Besprechung beabsichtigt nur eine zusammenfassende Übersicht zu geben.

Für das über die Blätter streichende Gasgemisch wählten wir Luft, dem 1 — 1½ Vol.-Proz. Kohlensäure beigemischt war. Es wird in zusammengepresztem Zustande in einer gewöhnlichen eisernen Bombe aufbewahrt. Die Bombe ist mit einem guten Reduzierventil versehen; dasselbe ermöglicht uns die Geschwindigkeit des Gasstromes in jeder beliebigen Weise zu variieren, und sie während

längerer Zeit innerhalb ziemlich enger Grenzen konstant zu halten.

Zur Beobachtung der Gleichmäszigkeit des Gasstromes benutzten wir ein sog. Strömungsmanometer, das ganz nach den Angaben Willstätters angefertigt wurde. Als Sperrflüssigkeit benutzten wir nicht das schwere Quecksilber, sondern Glyzerin, wodurch der Apparat in hohem Masze an Empfindlichkeit gewann. Aus einigen Vorversuchen ergab sich, dasz bei einer Druckdifferenz von 10 cm Glyzerin in 20—22½′ 2 l Luft durch den Apparat strömte.

Vor dem Anfang jedes Versuches wird die ganze Apparatur mit einem kräftigen Strom des Gasgemisches durchgespült (Siehe unten S.). Während dieser Zeit ist das Strömungsmanometer selbstverständlich ausgeschaltet, und nimmt das Gas seinen Weg durch ein parallel am Strömungsmanometer verlaufendes Rohr, was durch ein einfaches Umdrehen zweier Dreiweghähne erreicht wird. Um aber unter diesen Umständen einen ungefähren Eindruck der Strömungsgeschwindigkeit zu bekommen, ist zwischen der Gasbombe und dem Manometer ein einfacher, mit konzentrierter Schwefelsäure beschickter Blasenzähler angebracht worden.

Jeder Versuch dauert etwa 4—5 Stunden, und es sind also besondere Vorsichtsmaszregeln zu treffen, welche ein Austrocknen der Blätter verhüten. Zu diesem Zweck benutzen wir — ähnlich wie Willstätter — eine geschlossene Waschflasche, welche mit Wasser und Glaswolle angefüllt war. Dieser Teil des Apparates befindet sich in einem kleinen Thermostaten eingesenkt; das Wasserbad wird von einer elektrischen Glühlampe auf eine Temperatur von etwa 29° C geheizt, welche Temperatur nur geringen Schwankungen unterworfen ist. Das in dieser Weise bei einer Temperatur von 29° C mit Wasserdampf gesättigte Gas gelangt nun zu dem Assimilationsraum.

Zur Verhütung einer Kondensation des Wassers in dem Verbindungsrohr zwischen dem Anfeuchter und der Assimilationskammer, ist dieses Rohr mit einem elektrisch geheizten Bleikabel umwickelt.

Die Assimilationskammer war derjenigen Willstätters recht ähnlich, nur wurde sie nicht aus Glas, sondern aus Kupfer verfertigt. Die ganze Dose, aber besonders ihre Innenfläche wurde schwer vernickelt. Es läszt sich kaum vorstellen, dasz das Metall innerhalb der relativ kurzen Versuchsdauer einen schädlichen Einflusz auf die Blätter ausübe; wir haben wenigstens so etwas nie beobachtet. Die Blätter werden auf ein, den Boden der Kammer bedeckendes Nickeldrahtnetz (statt des Willstätterschen Silberdrahtnetzes) ausgelegt, indem sie einander möglichst wenig überschatten. Die Blattstiele stecken in Löchern, welche in regelmäszigen Abständen im Netz angebracht sind. Damit die Schnittflächen der Blattstiele gut feucht bleiben, bringen wir in die Assimilationskammer ein wenig Wasser ein. Vor dem Anfang jedes Versuches werden die an dem Boden der Schale haftenden fettartigen Bestandteile mit einem Stückchen Polierpapier beseitigt, damit das Wasser sich gleichmäszig über das Nickel ausbreite. Die Assimilationsdose wird mit einer mittels Schraubenklemme aufgedrückten Spiegelglasplatte verschlossen, genaue Angaben in dieser Hinsicht findet man bei Willstätter. Nur sei bemerkt, dasz wir dem Paraffin etwas Vaselin beimischten, wodurch sein Schmelzpunkt sich auf 40° C erniedrigte. Durch einen seitlichen Tubus der Assimilationsdose steckt ein rechtwinkliges Thermometer, dessen Kugel zwischen den Versuchsblättern verborgen ist. Später benutzten wir zu der Temperaturablesung auch ein gewöhnliches Thermometer, dessen Schale sich innerhalb der Assimilationskammer befand.

Bevor ich jetzt zu der Beschreibung der Beleuchtungs-

apparate schreite, sei bemerkt, dasz die ganze Apparatur sich in einer Dunkelkammer befindet, deren Temperatur innerhalb 0.4° C konstant blieb. Dieser Umstand bietet — wie sich später zeigen wird — grosze Vorteile bei der Messung der durchgeströmten Gasmenge. Oberhalb dieser Dunkelkammer befand sich ein kleiner bodenartiger Raum, wo die Lichtquelle aufgestellt wurde.

Als solche benutzten wir eine *Philips Kinolampe*, typ. 6004. Durch einen Reflektor hinter der Lampe wird nach einer Seite hin ein starker Lichtbüschel hingeworfen. Ein ebener Spiegel wirft den Büschel durch ein Loch in der Wand zwischen der Dunkelkammer und dem genannten Raum senkrecht nach unten, wo das Licht, zu den assimilierenden Blättern gelangt. Zur Verhütung einer übermäszigen Wärmewirkung der Lichtstrahlen steht zwischen der Lampe und dem Spiegel ein strömendes Wasserbad, dessen Wände durch Spiegelglasplatten gebildet werden. Die Länge des Lichtbüschels, gemessen von der Lampe bis zu der Assimilationsdose beträgt etwa 150 cm. Deshalb war die Temperatursteigerung innerhalb der Assimilationskammer während der Versuchsdauer relativ gering. Und es wird eine genügende Kühlung erreicht, indem wir die Assimilationsdose in ein untiefes Wasserbad einsetzen. Das Wasser überdeckt die Glasplatte nicht und wird zu regelmäszigen Zeiten verfrischt. In dieser Weise arbeitend, sind die Temperaturschwankungen der assimilierenden Blätter leicht innerhalb 0.5° C zu halten.

Das aus dem Assimilationsraum flieszende Gas gelangt jetzt zu den Trocknungs- und Analysevorrichtungen. Zur Trocknung führen wir das Gasgemisch durch ein langes, mit konzentrierter Schwefelsäure fast ganz gefülltes Pettenkofersches Rohr. An dieses Rohr stöszt ein mit Phosphorpentoxyd versehenes, horizontal aufgestelltes U-Rohr, wodurch die letzten Spuren Wasser absorbiert werden. Der schädliche Raum der beiden Rohre ist möglichst gering.

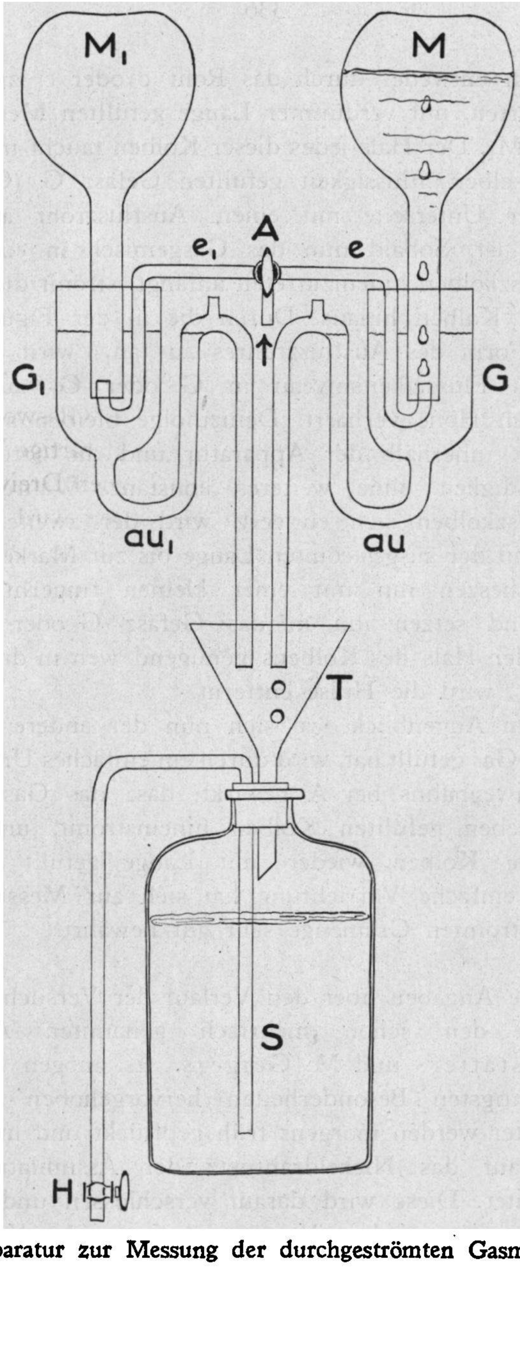
Die Vorrichtung hat sich zur Trocknung des Gases sehr gut bewährt; das Phophorpentoxyd erhält sich während einer fast unbegrenzten Zeit in trockenem Zustand.

Die Analyse des Gasgemisches gestaltet sich ganz ähnlich wie bei Willstätter, indem wir das Gas durch zwei hintereinander geschaltete U-Rohre leiten. Das erste ist ganz mit Natronkalk angefüllt; das zweite nur in dem Teil, zu welchem das Gas zuerst gelangt. Der andere Schenkel des zweiten Rohres enthält Phosphorpentoxyd zur Bindung des bei der Kohlensäureabsorbtion gebildeten Wassers. Der Natronkalk ist durch einen Bausch Glaswolle vom Phosphorpentoxyd getrennt. Es sind zwei derartige Vorrichtungen nebeneinander geschaltet; durch einen Dreiweghahn vor und hinter den analytischen Apparaten wird bewirkt, dasz das Gas seinen Weg entweder durch das eine oder durch das andere Röhrchenpaar nehmen kann. Jedes der U-Rohre wird auf einer analytischen Wage gewogen; das Gewicht beträgt etwa 45—50 g. Die aus den Versuchen hervorgehenden Assimilationswerte der Blätter werden auf 0.5 mg abgerundet.

Vor dem Anfang jedes Versuches schicken wir einen kräftigen Strom des Gases durch die ganze Apparatur hindurch. Selbstverständlich fleiszt das Gasgemisch dabei nicht durch die Trocknungs- und Absorbtionsvorrichtungen, sondern durch ein parallel diesen Apparaten verlaufendes leeres Rohr.

Zur Prüfung, ob der ganze Apparat luftdicht geschlossen sei, verfuhren wir in derselben Weise wie Willstätter; man sehe dazu S. 71/72 seiner Arbeit über die Assimilation der Kohlensäure.

Zur Messung der durchgeströmten Gasmenge bedienten wir uns nicht — wie Willstätter und Geiger — einer kostspieligen Gasuhr, sondern konstruierten wir die einfache auf S. 335 abgebildete Vorrichtung. Das aus den Analyserohren tretende Gas gelangt bei A zu der Meszapparatur.



Apparatur zur Messung der durchgeströmten Gasmenge.

Es strömt entweder durch das Rohr c oder c_1 zu einem umgekehrten, mit verdünnter Lauge gefüllten Meszkolben M oder M_1. Der Hals jedes dieser Kolben taucht in einem, mit derselben Flüssigkeit gefüllten Gefäsz G (G_1), das an seiner Unterseite mit einem Ausfluszrohr au (au_1) versehen ist. Sobald nun das Gasgemisch in einen der zwei Meszkolben hineinzutreten anfängt, strömt die Lauge aus dem Kolben hinaus. Durch die in der Figur angegebene Form des Ausfluszrohres au (au_1) wird erreicht, dasz das Flüssigkeitsniveau in G oder G_1 auf einer konstanten Höhe verharrt. Demzufolge bleiben auch der Gasdruck innerhalb der Apparatur und die Strömungsgeschwindigkeit ohne weiteres konstant. Während der eine Meszkolben sich entleert, wird der zweite bei H wieder mit der ausgeströmten Lauge bis zur Marke gefüllt. Wir schlieszen ihn mit einer kleinen fingerhutartigen Hülse und setzen ihn in das Gefäsz G oder G_1 ein. Sobald der Hals des Kolbens genügend weit in die Lauge eintaucht, wird die Hülse entfernt.

In dem Augenblick, wo sich nun der andere Kolben ganz mit Gas gefüllt hat, wird durch ein einfaches Umdrehen des Dreiweghahns bei A bewirkt, dasz das Gasgemisch in den eben gefüllten Kolben hineinströmt, und kann der erste Kolben wieder mit Lauge gefüllt werden.

Diese einfache Vorrichtung hat sich zur Messung der durchgeströmten Gasmenge sehr gut bewährt.

Genaue Angaben über den Verlauf der Versuche findet man in den schon mehrfach genannten Arbeiten R. Willstätters und M. Geigers. Es mögen hier nur die wichtigsten Besonderheiten hervorgehoben werden. Die Blätter werden morgens früh gepflückt und möglichst schnell auf das Nickeldrahtnetz der Assimilationsdose ausgebreitet. Diese wird darauf verschlossen und in die Apparatur eingeschaltet. Vor dem Anfang jedes Versuches

schicken wir einen kräftigen Strom des Gasgemisches durch die ganze Apparatur — mit Ausnahme des Strömungsmanometers und der analytischen Apparate — hindurch. (Theoretisches über die verschiedenen Unterteile der Methode bei Geiger). Nach Ablauf dieser Periode stellen wir die Geschwindigkeit des Gasstromes auf etwa die Versuchsgeschwindigkeit ein und lassen wir das Gas in dieser Weise etwa 20′ lang über die Blätter und durch das Pettenkofersche Rohr strömen; es verläszt die Apparatur hinter dem horizontalen, mit P_2O_5 gefüllten U-Rohr, durch eins der beiden Röhre, an welches wir sofort die analytischen U-Rohre anschalten werden. Während dieser Vorperiode können die Blätter sich an die geänderten Auszenbedingungen gewöhnen und stellt sich im schädlichen Raum der Apparatur ein Gleichgewicht zwischen der eintretenden und der von den Blättern verarbeiteten Kohlensäure ein. Weil der eigentliche Versuch mit einer Beobachtung der Atmungsintensität anfängt, wurden die Blätter im Assimilationsraum sofort nach der Einschaltung der Assimilationsdose in die Apparatur vor jedem Lichtzutritt geschützt.

Der wichtigste Vorteil der Methode Willstätters steckt in der Tatsache, dasz sie eine Beobachtung des Gaswechsels in Intervallen gestattet, und also auf die Änderungen, welche besonders die Assimilationsintensität während der Versuchsdauer erleidet, aufmerksam macht. Das erste und in einigen Fällen auch das zweite Intervall dient zur Bestimmung der Atmungsgrösze. Nachdem dieser Teil der Versuche beendet ist, wird die Lichtquelle entzündet und warten wir etwa 20′, damit sich im schädlichen Raum ein neues, von der einsetzenden Assimilation herrührendes Gleichgewicht einstellen kann. Nach Ablauf dieser Zwischenperiode beobachten wir in fünf bis sieben Intervallen die Assimilationsleistung der zum Versuch herangezogenen Blätter.

In den meisten Versuchen strömte in je 22—22½′ 2 l Gas über die Blätter; nur in einigen Fällen, dasz der Kohlensäuregehalt des gelieferten Gases relativ hoch war, haben wir die Strömungsgeschwindigkeit bis auf die Hälfte verringert. Die Methode, deren wir uns bei der Messung der durchgeströmten Gasmengen bedienten, gestattet nur die Messung ganz bestimmter Gasvolumina (1 l oder 2 l), und sie nötigt uns also, jedes Intervall zu unterbrechen, sobald 2 l (in den Ausnahmefällen 1 l) des Gasgemisches aus der Apparatur herausgetreten sind. Und obgleich wir die Strömungsgeschwindigkeit möglichst konstant hielten, gibt es in der Zeitdauer der verschiedenen Intervalle doch Unterscheide, welche man nicht vernachlässigen darf. Ich ziehe z.B. die Bruttoergebnisse eines willkürlichen Versuches heran:

TABELLE 2.

Bruttoergebnisse eines an den Blättern von Polygonum cuspidatum Sieb. angestellten Assimilationsversuches

Art der Versuche	Atmung		Assimilation					
Nr. des Intervalles	1	2	3	4	5	6	7	8
Dauer der Intervalle	22.2	22.4	21.9	22.0	22.0	21.6	21.5	21.9 min
mg CO_2 auf 2 l austretendes Gas	49.1	49.5	37.9	35.7	34.2	34.2	34.3	34.3 mg
	(Mittelw. 49.3)							
Assimilationsleistung der Versuchsportion, pro Intervall			11.4	13.6	15.1	15.1	15.0	15.0 mg

Die erste Zeile dieser Tabelle zeigt die Zeitdauer der Intervalle in Minuten; die zweite zeigt die Menge der Kohlensäure, welche von 2 l des austretenden Gases

enthalten wird. Wenn man die Werte der sechs Assimilationsintervalle von dem Mittelwert der beiden ersten Intervalle subtrahiert, so erhält man die von der Versuchportion in jedem Intervall assimilierte Menge Kohlensäure: Siehe die dritte Zeile. Man darf nun die sechs so erhaltenen Werte nicht ohne weiteres mit einander vergleichen, gibt es doch zwei Faktoren, welche für jedes Intervall verschieden sind: *a*) Die Dauer, und *b*) Die Strömungsgeschwindigkeit des Gases. Der nächste Versuch zeigt nun, dasz der letzte Faktor — wenigstens innerhalb gewisser Grenzen — auf die Assimilationsleistung der Blätter ohne einen erheblichen Einflusz ist:

TABELLE 3.

Assimilationsleistung der Blätter von Fuchsia hybrida hort. Mrs. Rundell; bei wechselnder Geschwindigkeit des Gasstromes; beobachtet in Intervallen, berechnet pro 3 dm^2

Geschwindigkeit: 1 l pro 22-23'		Geschwindigkeit: 1½ l pro 22-23'	
Dauer der Intervalle (min)	Assimilationsleistung in fünf Intervallen mg pro 3 dm^2	Dauer der Intervalle (min)	Assimilationsleistung in fünf Intervallen mg pro 3 dm^2
22.7	15.2	23.1	16.4
22.8	14.2	23.2	15.1
23.5	15.9	23.2	15.9
22.7	15.7	22.8	15.0
22.8	15.5	22.7	16.6

Um einen Vergleich zwischen den Assimilationswerten der verschiedenen Intervalle zu machen, haben wir also nur den ersten Faktor — Dauer des Intervalles — zu berücksichtigen. Selbstverständlich steht die Assimilations-

leistung des Versuchsmaterials zu der Dauer des Intervalles in einem geraden Verhältnis; und die Umrechnung der Assimilationswerte auf eine bestimmte Zeitdauer gestaltet sich also ganz einfach. In der nächsten Tabelle ist sie ausgeführt für die auf S. 338, Tab. 2 angeführten Werte von Polygonum cuspidatum (Tab. 4).

TABELLE 4.

Umrechnung der Bruttoassimilationswerte von Polygonum cuspidatum (S. 338, Tab. 2) auf dieselbe Zeitdauer ($22^1/_2{}'$))

Assimilationsleistung Intervall (mg)	Dauer des Intervalles (min)	Assimilationsleistung pro 22½' (mg)
11.4	21.9	11.7 ($= \frac{22.5}{21.9} \times 11.4$)
13.6	22.0	13.7
15.1	22.0	15.4
15.1	21.6	15.7
15.0	21.5	15.7
15.0	21.9	15.5

Die Zeitdauer 22.5′ ist eine ganz willkürliche; sie wurde nur gewählt, weil die Dauer der Versuchsintervalle immer zwischen 22′ und 23′ schwankte; die Assimilationsbeträge erleiden bei der Umrechnung also nur geringfügige Änderungen, was in Hinsicht auf die Grösze der Versuchsfehler einige Vorteile bietet.

Im obenstehenden Versuch haben die Blätter sich offenbar erst im dritten Intervall den geänderten Versuchsbedingungen angepaszt; deshalb wählten wir für die Zahl, mit welcher wir die Assimilationsleistung der Polygonumblätter ausdrücken: 15.5 (mg). Es kommt aber auch vor, dasz die Assimilationswerte nach dem ersten Ansteig wieder herabsinken, oder auch sofort — also ohne vorhergehenden Zuwachs — abfallen. In derartigen Fällen

wählen wir das Maximum der Assimilationswerte für die Assimilationsleistung der Versuchsportion. (siehe bei Willstätter).

TABELLE 5.

Gang der Assimilationswerte (pro 22½′ berechnet) während der Versuchsdauer; Angabe der Assimilationsleistung der Versuchsportion
(Die Daten sind späteren Versuchen entnommen)

Pflanze	Assimilationsleistung in den verschiedenen Intervallen; pro 22½′ berechnet (mg).							Assimilationsleistung der Versuchsportion
Chaenomeles...	12.4	12.7	12.7	13.4	12.2	12.4	10.0	13.0 mg
Parthenocissus .	7.1	8.7	10.1	9.2	8.7	7.5	—	10.0 mg
Cornus........	11.8	15.8	16.0	15.2	14.1	12.9	—	16.0 mg

In der obenstehenden Tabelle findet man einige Beispiele über den Gang der Assimilationswerte (berechnet pro 22½′) während der Versuchsdauer und über die Wahl der Zahl, welche die Assimilationsleistung der Blätter ausdrücken soll.

Es geht daraus hervor, dasz es zu einer genauen Bestimmung der Assimilationsintensität unbedingt notwendig ist, die Assimilation in Intervallen zu beobachten. Die Kohlensäuremengen, welche während einer längeren Zeitdauer von den Blättern zerlegt werden, geben von der Intensität der Photosynthese kein gutes Bild.

Aus diesem Grund steckt in den Angaben der älteren Forscher — z.B. von Griffon und Combes — ein sehr unsicheres Element, wenn nicht eine wichtige Fehlerquelle.

Schlieszlich sind noch einige kurze Bemerkungen zu machen.

Wir berechneten — siehe für die Motivierung dieses

Verfahrens die Dissertation von Frl. Gouwentak [90]) — die Assimilationsleistung immer pro Oberfläche; namentlich bezogen wir sie in allen Versuchen auf eine Blattfläche von 3 dm^2. Diese Wahl ist wieder eine ganz willkürliche, und soll aus ähnlichen Gründen wie diejenige der Zeitdauer der Intervalle erklärt werden. Die Messung der Oberfläche gestaltete sich ganz einfach, indem wir die Blätter auf Blaudruckpapier zum Kopieren auslegten; die Oberfläche der Kopien wurde mittels des Rollplanimeters bestimmt.

In vielen Versuchsreihen machten wir auszerdem einen Vergleich zwischen den von den Blättern enthaltenen Chlorophyllmengen. Die in den nachstehenden Tabellen (§§ 3 und 5) zur Angabe des Chlorophyllgehaltes angeführten Zahlen haben keinen absoluten Wert; es sind nur Verhältniszahlen.

Wenn man die pro 3 dm^2 berechneten Assimilationsleistungen der Blätter einer Versuchsreihe dividiert durch die Zahlen, welche den Chlorophyllgehalt gleich groszer Blattflächen angeben, so ergibt sich daraus das Verhältnis der Willstätterschen Assimilationszahlen. Man findet die diesbezüglichen Angaben auf der untersten Zeile jeder Tabelle.

Selbstverständlich ist bei der Aufstellung der beschriebenen Apparatur die Hilfe eines fähigen Feinmechanikers erforderlich. An dieser Stelle sage ich Herrn Ph. Bos, Feinmechaniker am Pflanzenphysiologisch Laboratorium der Gemeindlichen Universität, Amsterdam, Dank für die fortwährende Hilfe, welche er mir bei der Herstellung fast aller Unterteile geleistet hat.

§ 3. Physikalische Beziehungen zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation.

Die Beziehungen, welche von den verschiedenen Forschern im Laufe der Jahre zwischen der Kohlensäureassimilation

und den Anthocyanen vorausgesetzt wurden, waren nicht immer eines ähnlichen Charakters. Wenn es sich handelt um die Art und die Menge der Lichtstrahlen, welche vom roten Farbstoff absorbiert werden, so ist der Einflusz, welcher möglicherweise daraus vom Anthocyan auf die Kohlensäureassimilation hervorgeht, ein rein physikalischer: er hat mit der chemischen Natur des Farbstoffes nichts zu schaffen. Anders steht es mit den Beziehungen, von welchen in den Arbeiten Combes' und Noacks die Rede war; nach diesen Forschern soll das Anthocyan, unabhängig von seinen physikalischen Eigenschaften, in irgend einer Weise beim Chemismus der Assimilation beteiligt sein.

Nun wird sich, wenn man Assimilationsbestimmungen an roten Blättern macht, ein physikalischer Einflusz des Anthocyans auf den Assimilationsvorgang nicht unter allen Umständen in den Versuchsergebnissen zur Geltung bringen. Arbeitet man unter Bedingungen maximaler Beleuchtungsstärke, spielt das Licht bei dem Versuche also nicht die Rolle eines beschränkenden Faktors, so wird eine — aus irgend welchen Gründen verursachte — Abschwächung der Lichtintensität (selbstverständlich innerhalb gewisser Grenzen) kein Herabsinken der Assimilationswerte zur Folge haben. Und sollte sich unter derartigen Umständen aus den Versuchen ergeben, dasz mit der Anwesenheit des Anthocyans im Gewebe eine niedrige Assimilationsleistung verknüpft sei, so hätte man diese Erscheinung ganz einfach auf eine chemische Beziehung des roten Farbstoffes zu den Prozessen der Photosynthese zurückzuführen.

Der nächste Versuch zeigt aber, dasz die Sachen sich in unseren Versuchen ganz anders verhalten. Eine Erhöhung der Lichtintensität, bei welcher wir die Blätter normalerweise assimilieren lieszen, ist nicht ohne Einflusz auf die Assimilationsleistung des Versuchsmaterials:

TABELLE 6.

Assimilationsleistung der Blätter von Fuchsia hybrida hort Mrs. Rundell (22½'; 3 dm²);

a. bei der normalerweise benutzten Beleuchtungsstärke

b nach einer zwanzigprozentigen Erhöhung der Lichtintensität.

Relative Beleuchtungsstärke	Assimilation
100	16 mg
120	19.5 mg

Die Methode, deren wir uns bei den Assimilationsmessungen bedienten, gestattet also nicht, ohne weiteres zu entscheiden, ob eine etwaige niedrige Assimilationsleistung roter Organen durch die physikalischen oder durch die chemischen Beziehungen des Farbstoffes zu der Chlorophylltätigkeit verursacht wird. Demzufolge haben wir, bevor wir eine Untersuchung anstellen nach den Beziehungen chemischen Charakters, welche es möglicherweise zwischen den Anthocyanen und dem Assimilationsvorgang gibt, uns erst der Frage zuzuwenden, ob das Anthocyan durch die Absorbtion bestimmter Strahlenbezirke vielleicht auch einen physikalischen Einflusz auf die Chlorophylltätigkeit ausübe.

Die Lösung dieses Problems kann in verschiedenen Weisen herbeigeführt werden. Man könnte z.B. die Absorbtionsspektra von Chlorophyll- und Anthocyanlösungen verschiedener Konzentration miteinander vergleichen, und aus der Tatsache, dasz diese Spektra mehr oder wenig komplementär seien, irgend eine Schluszfolgerung ziehen. Bei diesem Verfahren kommen aber Fragen in Betracht — wie die Schichtdicke des Anthocyans im Blatt und die Konzentration und die Lokalisierung des

Farbstoffes im Gewebe—deren Beantwortung sofort nicht möglich ist.

Es ergab sich aber aus einigen Vorversuchen, welche wir an den Blättern verschiedener Purpureavarietäten machten, dasz sich bei diesen Gewächsen von einem Einflusz des Anthocyans auf die photochemische Wirksamkeit nichts beobachten läszt. Praktisch bedeutet das, dasz die Absorption bestimmter Farben durch das Anthocyan auch bei den jugendlich und herbstlich roten Blättern von keiner Bedeutung ist. Denn die Spektra der verschiedenen Anthocyane sind unter einander nur wenig verschieden, und in bezug auf ihren Anthocyangehalt stehen diese Blätter fast immer — und wenigstens soweit wir sie zu den Versuchen benutzen werden — weit hinter den Blättern der Purpureavarietäten zurück. Wir können uns in diesem Paragraphen also auf die Besprechung der diesbezüglichen Versuche beschränken.

Die meisten Forscher haben die Frage nach einem eventuellen Einflusz des Anthocyans auf die photosynthetische Wirksamkeit der roten Varietäten zu lösen versucht, indem sie einen Vergleich machten zwischen den Kohlensäuremengen, welche vom Laub dieser Pflanzen und von den Blättern der grünen Stammformen zerlegt werden. Es schleicht in dieser Weise aber ein sehr unsicheres Element in die Versuchsergebnisse, läszt sich doch gar nicht sagen, ob die beiden Varietäten sich nur hinsichtlich des Anthocyangehaltes von einander unterscheiden, oder ob noch andere die Kohlensäureassimilation beeinflussende Faktoren hinzukommen.

Es finden sich aber auch sehr oft an den Purpureavarietäten selbst grüne Blätter, welche sich sehr gut als Vergleichungsmaterial der roten benutzen lassen. Bei der Blutbuche z.B. findet man die anthocyanhaltigen Blätter nur an der Auszenseite der Laubkrone. Die etwas

mehr beschatteten enthalten den Farbstoff nicht oder nur in geringen Mengen; während aus den unten angeführten Tabellen hervorgeht, dasz der Chlorophyllgehalt von der niedrigen Lichtintensität nicht beeinträchtigt wird. Es zeigte sich also eine leichte Aufgabe von diesem Baum rote und grüne Blätter zu pflücken, welche denselben Chlorophyllgehalt aufwiesen. Wenn wir nun die Assimilationsleistungen dieser beiden Blätter miteinander vergleichen, so haben wir damit den Fehler der älteren Forscher umgangen, und ist der Eihflusz anderer Unterschiede zwischen den roten und den grünen Blättern möglichst vollständig ausgeschaltet. Die Ergebnisse der an der Blutbuche gemachten Versuche findet man in der nächsten Tabelle:

TABELLE 7.

Assimilationsleistung der roten und der grünen Blätter von Fagus silvatica L. var. purpurea Ait.

Versuchspflanze	Fagus silvatica var. purpurea		
Farbe der Blätter Datum	grün 20/6		rot 24/6
Von der Versuchsportion			
Assimilationsleistung	13.0–13.5		13.0–13.5 mg
Oberfläche	328		331 cm^2
Assimilation pro 3 dm^2 und 22½′ ...	12		12 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen			
in den Versuchsportionen	60	:	64
in gleichen Blattflächen	55	:	58
Verhältnis der Assimilationszahlen ...	1.0	:	0.94

Die auf 1 g Chlorophyll bezogene Assimilationsleistung (Assimilationszahl) zeigt also bei den roten Blättern eine geringfügige Erniedrigung; sie fällt aber fast innerhalb

der Grenzen der Versuchsfehler, und es ist also sehr fraglich, ob ihr irgend welcher Wert beizulegen sei.

Zwei andere Versuche, welche an der Bluthasel — Corylus maxima Mill. f.atrosanguinea — gemacht wurden, führten zu den selben Schluszfolgerungen. Auch an diesem Strauch finden sich die beiden Arten von Blättern — anthocyanhaltige und anthocyanfreie — sofort nebeneinander. Zu unseren Versuchen benutzten wir Blätter, welche sich in bezug auf das Stadium ihrer Entwicklung möglichst wenig voneinander unterschieden; die anthocyanhaltigen zeigten eine fast schwarzrote Farbe.

TABELLE 8.

Assimilationsleistung der roten und grünen Blätter der Bluthasel, Corylus maxima var. atrosanguinea.

Versuchspflanze	Corylus maxima var. atrosanguinea.	
Farbe der Blätter Datum	grün 19/7	rot 18/7
Von der Versuchsportion		
Assimilationsleistung (22½′).....	10.5	8.0 mg
Oberfläche	369	339 cm^2
Assimilation pro 3 dm^2 und 22½′ ...	8.5	7.0 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen		
in den Versuchsportionen	55	: 40
in gleichen Blattflächen	46	: 35
Verhältnis der Assimilationszahlen ...	1.0	: 1.1

Der Chlorophyllgehalt zeigte sich also bei den roten Blättern etwas geringer als bei den grünen. Aus dem Verhältnis der Assimilationszahlen geht jedoch hervor,

dasz die *Chlorophylltätigkeit* sogar bei den roten Blättern noch etwas gröszer war als bei den grünen. *)

Die beiden Versuche führen also zu dem Schlusz, dasz die Assimilationsleistung der Purpureavarietäten von der Lichtabsorbtion des Anthocyans nicht beeinträchtigt wird. Falls die absoluten Assimilationswerte bei den roten Varietäten etwas niedriger sind als bei den grünen (Corylus), so ist diese Erscheinung auf den gleichfalls niedrigen Chlorophyllgehalt zurückzuführen.

Aus den im diesem Paragraphen besprochenen Assimilationsbestimmungen ergibt sich aber nicht, dasz man nun auch eine chemische Funktion des Anthocyans in den Prozessen der Photosynthese in Abrede zu stellen habe. Denn es wäre sehr gut möglich, dasz es eine Beziehung chemischen Charakters zwischen den Anthocyanen und der Assimilation bei den roten Varietäten gar nicht gebe, sondern nur bei denjenigen Pflanzen, welche den roten Farbstoff in bestimmten Perioden ihres Lebens (Frühling, Herbst) enthalten.

Über diese Frage werden wir uns in den nachfolgenden Paragraphen entscheiden.

§ 4. Chemische Beziehungen zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation.

I. Theoretische Betrachtungen.

Das Problem, welchem wir uns jetzt zuwenden, ist weit komplizierter als von den verschiedenen Forschern —

*) Selbstverständlich hat man, wenn es physikalische Beziehungen zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation gilt, die Assimilationsleistung auf die Chlorophyllmenge umzurechnen. Die absoluten Assimilationswerte sind aber ebensowenig im Stande, etwas über die Theorie Noacks auszusagen; bei der Bluthasel sind sie für die roten und grünen Blätter verschieden, bei der Blutbuche jedoch gibt es keine Unterschiede zwischen den von gleichen Blattflächen zerlegten Mengen Kohlensäure.

z.B. Combes und Noack—vorgestellt wird. Somit erscheint es mir erwünscht, bevor wir die experimentelle Bearbeitung der gestellten Aufgabe in Angriff nehmen, einige theoretische Betrachtungen hervorzuheben.

Die wichtigsten Fälle, in welchen sich gelegentlich eine Anthocyanbildung in den Blättern beobachten läszt, sind: *)

1. In ihrer Jugend.
2. In herbstlich alten, bald absterbenden, oder auch zum Teil schon abgestorbenen Blättern.
3. In den winterlichen Blättern ausdauernder Pflanzen.
4. Wenn man die Blätter einige Tage auf einer Zuckerlösung schwimmen läszt.
5. Zufolge in irgend einer Weise beigebrachten Verletzungen (Insekten; Ringelung von Ästen; Knicken der Blattstiele oder der Blattnerven).

Obgleich nicht immer, so wird doch in vielen dieser Fälle die Anthocyanbildung vom Licht beherrscht. Ist das der Fall, so bleibt im Dunkeln, oder oft schon auch im Schatten die rote Farbe aus, es mögen auch alle anderen Bedingungen zu seinem Auftreten erfüllt sein. Wenn man also im Herbst an einer Pflanze, wie Ampelopsis quinquefolia zwischen vielen roten Blättern ebensoviele grüne findet, so kann die grüne Farbe der letzteren von zwei ganz verschiedenen Ursachen herrühren:

1. Weil sie von anderen bedeckt sind, und also das direkte Sonnenlicht entbehren.
2. Weil ihre herbstliche Entwicklung noch nicht genügend weit fortgeschritten ist.

Im Lichte der Theorie Noacks sind diese beiden Fälle scharf getrennt zu halten. Nach diesem Forscher sollen die Blätter — der vorgeschrittenen Jahreszeit

*) Aus den im vorigen Paragraphen erhaltenen Versuchsergebnissen geht hervor, dasz es keinen Sinn hat, die roten Varietäten hier wieder in Betracht zu ziehen.

wegen — im ersten Fall ihr Assimilationsvermögen schon zum gröszten Teil eingebüszt haben, zum Auftreten der roten Farbe reiche jedoch die Lichtintensität nicht aus. Im zweiten Fall aber soll das Ausbleiben des Anthocyans seine Ursache finden in den noch nicht zu den herbstlichen Werten herabgesunkenen Assimilationsleistungen der Blätter.

Aber auch wenn man unbefangen zum Problem herantritt, soll man sich immer fragen, ob der Farbenunterschied nur der gröszeren oder geringeren Lichtintensität zu verdanken sei, oder ob auch andere Faktoren hinzukommen. Denn es läszt sich zurzeit nicht entscheiden, ob nicht schon ein Teil des Prozesses der Anthocyanbildung in denjenigen Blättern stattgefunden habe, welche wegen des Lichtmangels nicht im Stande sind den roten Farbstoff zu erzeugen. Falls eine derartige Voraussetzung zutreffen sollte, so wären diese Blätter in Bezug auf die Anthocyanbildung von den gewöhnlichen grünen weit verschieden, und ist also auch ihr Verhalten hinsichtlich des Gaswechsels zu prüfen. *)

Wie dem auch sei, immer hat man, wenn man Untersuchungen in dieser Hinsicht anzustellen beabsichtigt, mit peinlichster Sorgfalt alle Nebenerscheinungen, welche gleichfalls einen Einflusz auf die Assimilation auszuüben vermögen, zu eliminieren. Dieses Prinzip bildet denn auch die Richtschnur bei den nachstehenden Betrachtungen.

Führen wir jetzt die fünf obengenannten Fälle etwas näher herbei:

A. Die jugendlich roten Blätter.

Es sind hier zwei Gruppen von Gewächsen zu unterscheiden.

*) Man sehe auch den vierten Abschnitt: Über die Bildungsweise des Anthocyans in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum.

a. Pflanzen, deren Blätter beim Entfalten im Frühling immer eine rote Farbe aufweisen,

b. Pflanzen, deren Blätter nur unter bestimmten Umständen in ihrer Jugend den Farbstoff enthalten. Bei den Vertretern dieser Gruppe wird die Anthocyanbildung also letzten Endes nicht nur von ihrer Jugend, sondern auch von andern, zurzeit noch unbekannten Faktoren hervorgerufen.

Am schwierigsten verhalten sich die Sachen, wenn die rote Farbe eine konstante, nie fehlende Eigenschaft der jugendlichen Sprosse ist, also bei den Pflanzen, welche zur ersten Gruppe gehören.

Bei derartigen Pflanzen ist zu bedenken, dasz es kürzere oder längere Zeit nach dem Entfalten der Blätter einen Augenblick gibt, in dem das Anthocyan zu verschwinden anfängt, und das Laub seine normale grüne Farbe erhält. Nach den Voraussetzungen von Combes und Noack soll diese Periode des Wachstums sich durch ein Ansteigen der Assimilationsleistungen der Blätter kennzeichnen. Combes ist der Meinung, dasz die roten Blätter in bezug auf die Intensität ihrer Assimilation weit hinter den grünen zurückstehen. Noack dagegen sucht die Ursache des Verschwindens der roten Farbe darin, dasz die Assimilationsenergie des wachsenden Blattes über einen bestimmten Wert hinaus ansteigt. Sobald die Menge des im Assimilationsprozess freiwerdenden Sauerstoffs über einen bestimmten Betrag hinaus ansteigt, soll sich nach Noack das Gleichgewicht: Anthocyan $\rightleftarrows$ Flavon nach der Seite des gelben Farbstoffes verschieben. Wie ersichtlich, ist dieser Gedankengang mit demjenigen Combes gar nicht identisch: Zwischen der Assimilationsleistung möglichst weit entwickelter roter Blätter und derjenigen des grünen Laubes, aus welchem der Farbstoff bereits verschwunden ist, braucht es nach Noack nur geringfügige Unterschiede zu geben, soweit die Assimilation anbelangt;

während Combes in dieser Hinsicht groszere Verschiedenheiten voraussetzt.

Sollte sich nun als das Resultat einer experimentellen Forschung ergeben, dasz die roten Blätter bald im Stande sind eine geringere, und bald dieselbe, oder auch sogar eine gröszere Menge Kohlensäure zu zerlegen, so wäre daraus ganz einfach auf die Unrichtigkeit der Theorien, welche eine geringe Assimilationsleistung mit der Anwesenheit des Anthocyans verbinden, zu schlieszen.

Andererseits aber, wenn es sich zeigen sollte, dasz die anthocyanhaltigen Blätter den etwas weiter entwickelten, schon anthocyanfreien, in ihrer photosynthetischen Wirksamkeit immer nachstehen, so wäre ein derartiger Befund nur unter sehr bestimmten Umständen ein Beweis für die Richtigkeit der Anschauungen von Combes und Noack c.s. *Es ist hier nämlich der Chlorophyllgehalt der Blätter mit in Betracht zu ziehen.* Wenn das Laub im Frühjahr seine rote Farbe verliert, sind die Blätter meistenfalls noch gar nicht erwachsen; während dieser Zeit findet fast immer noch ein erheblicher Zuwachs des Chlorophylls statt. Von Willstätter wurde aber dargetan, dasz in bestimmten Wachstumsperioden des jugendlichen Blattes mit einem noch niedrigen Chlorophyllgehalt auch eine geringe Assimilationsfähigkeit zusammengeht. Eine Beobachtung bezüglich der geringen Funktionstüchtigkeit des Chlorophylls in den jugendlich roten Blättern hätte also an und für sich nichts Besonderes: So etwas zeigen ja alle sich entfaltenden Blätter!

Und für eine experimentelle Prüfung der Hypothese bezüglich einer Beziehung des Anthocyans zu der Kohlensäureassimilation hätte eine derartige Angabe keinen Wert, weil es sich nie entscheiden läszt, ob die niedrigen Assimilationswerte nur durch den geringen Chlorophyllgehalt verursacht werden, oder ob sie auch mit der Anwesenheit

des Anthocyans im Gewebe zusammenhängen. Nur wenn das Chlorophyll keinen Zuwachs mehr aufweist, und das Verschwinden des Anthocyans also in dem erwachsenen Blatt stattfindet, hat man in einer niedrigen Assimilationsleistung der roten Blätter einen Anhaltspunkt für eine Voraussetzung im Sinne der Theorie Noacks oder Combes.

Fast immer verschwindet das Anthocyan aber aus den Blättern, bevor sie ihre normale Entwicklung erreicht haben. Es wäre denkbar, dasz unter derartigen Umständen, eine Beziehung des Farbstoffes zu den Prozessen der Photosynthese zur Geltung käme in einer ausserordentlich starken Ansteigung der Assimilationswerte des Blattes während der Umwandlung des Anthocyans (Combes), oder dasz der Gang der Assimilationsleistungen in den sich entfaltenden roten Blättern in irgend einer Weise von demjenigen in den sich entfaltenden grünen verschieden wäre. Aber auch wenn man derartige Erscheinungen nicht gewahr wird, und die Assimilationswerte der jugendlich roten Blätter in einer ganz normalen Weise heranwachsen, dürfte eine Beziehung des Anthocyans zu der Kohlensäureassimilation noch gar nicht ausgeschlossen sein. Nach der Theorie Noacks z.B. ist der Verlauf der Assimilationsleistungen in den jugendlich roten Blättern ganz dieselbe wie in den jugendlich grünen; zu ihrer Prüfung ist dieses Versuchsmaterial also *nicht* zu benutzen. Und es wäre verfrüht aus dem Befund, dasz mit der Umwandlung des Anthocyans im Frühling ein Ansteigen der Assimilationsintensität zusammengeht, auf einen inneren Zusammenhang zwischen diesen Prozessen zu schlieszen.

Weit einfacher ist die Beantwortung der Frage nach dem Zusammenhang zwischen den Anthocyanen und der Chlorophylltätigkeit bei denjenigen Pflanzen, welche im Frühling neben jugendlich roten auch jugendlich grüne

Blätter aufweisen. So etwas its z.B. der Fall bei Polygonum cuspidatum Sieb. Im Frühjahr läuft diese Pflanze mit blutroten Knospen aus. Nach einigen Wochen aber sind die schnell heranwachsenden Schöszlinge normal grün gefärbt, und enthalten sogar die jüngsten Blätter an den Spitzen der Zweige nur noch Spuren des roten Farbstoffes. Daneben findet man aber zu dieser Zeit am Boden Ausläufer, welche sich noch im ersten Stadium ihrer Entwicklung befinden und also in allen Organen noch eine intensive rote Farbe aufweisen. Es ist zurzeit schwierig zu entscheiden, ob die jugendlich roten und die jugendlich grünen Blätter, welche man bei dieser Pflanze also gerade nebeneinander findet, sich nur durch den Anthocyanbesitz, oder auch in irgend welchen anderen Hinsichten von einander unterscheiden; von Willstätter wurde aber dargetan, dasz die Blätter, welche sich im Frühjahr zuerst entwickeln, sich in Bezug auf die Assimilation ganz ähnlich verhalten, wie die jungen Blätter am oberen Ende der Zweige, in einer späteren Jahreszeit. Und wenn man also die Assimilationsintensität beiderlei Blätter miteinander vergleicht, so hat man damit einen wichtigen, die Assimilation beeinflussenden Nebenfaktor, dem wir bis hierher immer Rechnung zu tragen hatten, ausgeschaltet: Das Entwicklungsstadium des jungen Laubes. Ein Unterschied in der assimilatorischen Leistungsfähigkeit der anthocyanhaltigen und der anthocyanfreien Blätter kann hier nicht durch Unterschiede in der Entwicklung verursacht werden, sondern wäre zweifelsohne im Sinne einer Beziehung zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation zu deuten.

Aus dem Obenstehenden geht hervor:

1. Die jugendlichen Blätter, welche nur unter bestimmten Umständen Anthocyan enthalten, bilden ein vorzügliches Material für eine experimentelle Forschung

nach den Beziehungen zwischen dem Anthocyan und der Kohlensäureassimilation; gibt es hier doch keine Schwierigkeiten, welche aus einer verschiedenen Entwicklung des Versuchsmaterials hervorgehen.

2. Die Pflanzen, deren Blätter sich beim Entfalten immer rot färben, sind dazu, wenigstens soweit sie ihre rote Farbe verlieren, bevor sie ihre normale Entwicklung erreicht haben, weniger geeignet; es ist bei ihnen von vornherein nicht zu sagen, ob eine Beziehung zwischen dem Anthocyan und der Kohlensäureassimilation in den von diesen Blättern verarbeiteten Mengen Kohlensäure zur Geltung kommen werde.
3. Findet aber im letzten Falle die Umwandlung des Anthocyans in den schon ausgewachsenen Blättern statt, so ist der Einflusz der Entwicklung wieder eliminiert, und sind auch diese Blätter für die experimentelle Lösung des Problems sehr gut zu benutzen.

An zweiter Stelle beschäftigen wir uns mit:

B. Den herbstlich roten Blättern.

Es liegen hier ziemlich ähnliche Verhältnisse vor, wie bei den Pflanzen, deren Laub im Frühjahr den roten Farbstoff enthält. Den Unterschied zwischen Gewächsen, deren Blätter sich immer rot färben, und solchen, welche neben herbstlich roten auch herbstlich grüne Blätter besitzen, habe ich hier nicht beobachtet *). Wenn eine Pflanze im Herbst zur Anthocyanbildung befähigt ist, so färbt sich offenbar sein ganzes Laub rot, nur die nicht ausreichende Lichtintensität kann dazu ein Hindernis sein. Diesem Umstand zufolge bietet das Material genau genommen noch gröszere Schwierigkeiten als die jugendlichen Blätter.

Falls nun aus den Versuchen hervorginge, dasz die

*) Man sehe aber die Versuche mit Cornus purpusii. S. 371/372.

herbstlich roten Blätter der einen Pflanze weniger Kohlensäure zu zerlegen befähigt sind als die noch grünen, während die rote Farbe in einer anderen Pflanze mit einer noch ungeschwächten Assimilation zusammengeht, so wäre damit wieder erwiesen, dasz man eine Beziehung zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation in Abrede zu stellen habe.

Sollte sich aber als das Resultat einer experimentellen Forschung ergeben, dasz die im Herbst rotgewordenen Blätter ganz regelmäszig eine niedrige Assimilation aufweisen, so wäre damit noch nicht bewiesen, dasz den Anthocyanen eine Rolle im Assimilationsprozess zufalle. Ähnlich wie im Frühling hat man auch hier dem Chlorophyllgehalt des herbstlichen Laubes Rechnung zu tragen. Die herbstliche Rotfärbung wird nämlich manchmal von einem Abbau des Chlorophylls und einem Vergilben des Laubes begleitet. Diese Erscheinungen verursachen aber früher oder später einen Rücktritt in den Assimilationsleistungen des Blattes; und es liegt also kein Grund vor, das Herabsinken der Assimilationswerte mit dem Anthocyan in Beziehung zu setzen. Und ob sich die vorausgesetzte Funktion des Anthocyans neben dem Einflusz des Chlorophylls in den Assimilationsbeträgen des herbstlich roten Blattes beobachten läszt, ist hier, aus denselben Gründen wie im Frühjahr nicht vorherzusagen.

Es gibt aber auch Beispiele, dasz das Anthocyan in den herbstlichen Blättern gebildet wird zu einer Zeit, da diese sich noch in einem gut grünen Zustande befinden. Man könnte geneigt sein zu glauben, dasz das Verhalten dieser Blätter in bezug auf die Assimilation für die Entscheidung des uns beschäftigenden Problems von einer gröszeren Bedeutung wäre, ist doch hier (wieder) der Einflusz der herbstlichen Chlorophyllzerlegung ausgeschaltet. Diese Vermutung trifft jedoch nicht zu, weil die Assimilation auszer vom Chlorophyllgehalt noch von ganz anderen,

zurzeit unbekannten Faktoren abhängig ist. Diesem Umstand zufolge geht in mehreren Fällen im Herbst ein Herabsinken der Assimilationsbeträge dem Vergilben der Blätter voraus. Und falls die roten Blätter ein ähnliches Verhalten zeigen sollten, ist daraus nicht mit Sicherheit zu schlieszen, dasz die abgeschwächte Assimilation dem roten Farbstoff zu verdanken sei, oder dasz umgekehrt die Anthocyanbildung von der geringen photosynthetischen Wirksamkeit der Blätter herrühre.

Aus dem über die herbstlich roten Blätter Gesagten wird ersichtlich sein, dasz es, falls diese zu den Versuchen benutzt werden, nur unter bestimmten Umständen möglich sein wird, bei ihnen eine physiologische Beziehung zwischen dem Anthocyan und der Assimilationssistierung aufzuspüren.

Den oben erwähnten Schwierigkeiten begegnet man ebenso — nur in einem weit stärkeren Masze — bei den winterlichen Blättern perennierender Pflanzen, bei den mit Zucker ernährten Blättern, und bei solchen, welche eine Verletzung erlitten haben. Es ist durchaus unmöglich, von vornherein zu entscheiden, in welcher Weise die kalte Jahreszeit, das Überschwemmen der Blätter während mehrerer Tage mit einer Zuckerlösung und die Verletzungen der Insekten die Assimilation beeinflussen werden: für eine Erniedrigung der Assimilationsintensität sind hier offenbar viele Faktoren, deren Eliminierung eine Unmöglichkeit ist, verantwortlich zu machen. Und besonders für diese Fälle der Anthocyanbildung musz bemerkt werden, dasz es nicht gestattet ist, aus einem Zusammengehen der roten Farbe mit einer wenig intensiven Kohlensäurezerlegung auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen den beiden Erscheinungen zu schlieszen. Hätte sich aber die Assimilation in diesen Blättern während der Rotfärbung auf ihrer normalen Höhe erhalten, so wäre damit wieder bewiesen, dasz der rote Farbstoff keine Rolle im Assimilationsprozess spielt.

Ich habe mit diesem Material jedoch keine Untersuchungen angestellt, weil die Ergebnisse der Versuche, welche mit den jugendlich und herbstlich roten Blättern gemacht wurden, sich für die Entscheidung der gestellten Aufgabe völlig ausreichend zeigten.

§ 5. Chemische Beziehungen zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation.

II. Experimentelles.

Wir beschäftigen uns in diesem Paragraphen in erster Instanz mit den Versuchen, welche an den jugendlich roten Blättern gemacht wurden; weiter unten findet man die Resultate der herbstlichen Forschung.

1. *Die jugendlich roten Blätter.*

Die von Willstätter an den jugendlichen Blättern im allgemeinen angestellten Versuche haben dargetan, dasz die Blätter während einer kürzeren oder längeren Zeit nach dem Entfalten neben einem geringen Chlorophyllgehalt auch eine niedrige Assimilationsfähigkeit aufweisen. Jedoch stehen diese Erscheinungen in keinem direkten Verhältnis zueinander. Bestimmt man nämlich die von 1 g Chlorophyll zerlegte Menge Kohlensäure, berechnet man also die Willstättersche Assimilationszahl, so zeigt es sich, dasz diese in dem sich entfaltenden Blatt einen viel höheren Wert aufweist, als in dem erwachsenen.

Es fragt sich nun an erster Stelle, ob diese Erscheinung, welche sich fast immer beobachten läszt, wenn die Blätter aus irgend welchen Gründen nicht ihren normalen Chlorophyllgehalt aufweisen — auch bei den roten Blättern zu Tage tritt. Besonders zu diesem Zweck machten wir eine Reihe von Untersuchungen mit den Blättern verschiedener Acerarten. Die sich entfaltenden Blätter dieser Gattung zeigen öfters eine braune Farbe, welche von einer

ziemlich starken Anthocyanbildung in allen Gewebeteilen herrührt. Bei Acer pseudoplatanus L. und Acer rubrum L. findet man diese Erscheinung besonders stark ausgesprochen in den jungen Trieben, welche im Frühling am Fusz des Stammes emporwachsen. Die Ergebnisse unserer Versuche findet man in untenstehender Tabelle (Tabelle 9). Es wird daraus ersichtlich, dasz auch bei den roten Blättern die Assimilationszahl in der Jugend einen höheren Wert aufweist als im erwachsenen Blatt. Die Versuche sind bei Acer pseudoplatanus und bei Acer rubrum gar nicht mit möglichst jungen Blättern unternommen worden; somit ist auch die Erhöhung der Assimilationszahl bei den Blättern dieser Pflanzen nicht so stark als bei der dritten Versuchspflanze, von welcher schon der Chlorophyllgehalt aufweist, dasz die roten Blätter in einem sehr jungen Stadium ihrer Entwicklung zu den Versuchen herangezogen wurden.

Die maximale Erhöhung der Assimilationszahl, welche von Willstätter in seinen Versuchen beobachtet wurde, betrug etwa 100 %. Im zweiten Paragraphen dieses Abschnitts wurde dargetan, dasz die Blätter in den Untersuchungen Willstätters einer viel höheren Lichtintensität ausgesetzt wurden, als in unseren Versuchen der Fall sein konnte. Bekanntlich hat eine Erniedrigung der Lichtintensität in bezug auf das dadurch verursachte Herabsinken der Assimilationswerte, bei den jugendlichen, chlorophyllarmen Blättern einen weit gröszeren Einflusz als bei den erwachsenen, welche schon ihre normale grüne Farbe aufweisen. Je schwächer also das zu den Blättern gelangende Licht, umso geringer ist auch die bei den jugendlichen Blättern zu beobachtende Erhöhung der Assimilationszahl. Und es geht aus diesen Erwägungen hervor, dasz die Intensität des Lichtes, bei welcher wir die Blätter assimilieren lieszen, eine Beobachtung der Verdoppelung der Assimilationszahl noch reichlich gestattet.

TABELLE 9.

Die normale Erhöhung der Assimilationszahl bei den jugendlichen, anthocyanhaltigen Blättern verschiedener Acerarten.

Versuchspflanze	A. pseudoplatanus.			A. rubrum.		A. platanoides.		
Farbe der Blätter Datum	rot 18/5	rot 22/5	grün 24/5	rot 25/5	grün 30/5	rot 11/6	grün 12/6	grün 13/6
Von der Versuchsportion Assimilationsleistung (22½′)	15.9	15.7	16.6	13.3	15.8	12.0	16.0	18.3 mg
Oberfläche	204	276	253	294	265	326	291	243 cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm²	17	17	19	13.5	18	11	16.5	16.5 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen in den Versuchsportionen.....	—	: 69	: 111	60	: 78	35	: 85	: 80
in gleichen Blattflächen	—	: 82	: 122	61	: 89	32	: 88	: 99
Verhältnis der Assimilationszahlen	—	: 1.3	:*) 1.0	1.1	:*) 1.0	1.9	:*) 1.0	: *) 1.0

Weiter ist aus der oben angeführten Tabelle besonders deutlich ersichtlich, wiesehr es seinen Nutzen hat, neben den Assimilationsmessungen auch einen Vergleich zu machen zwischen den Chlorophyllmengen, welche die Versuchsblätter enthalten. Beim dritten Versuchsobjekt z.B. ist die von gleichen Blattflächen zerlegte Menge Kohlensäure für die roten Blätter weit geringer als für die grünen. Die Chlorophyllanalyse ergibt jedoch, dasz die Assimilationsleistung der roten Blätter ganz normal ist,

*) Weil es hier Verhältniszahlen galt, wählten wir immer für die Assimilationszahl der am weitesten entwickelten Blätter die Zahl 1.

weist doch die Assimilationszahl ihren üblichen hohen Wert auf. Von einer, von der Anwesenheit des Anthocyans herrührenden, auffällig niedrigen Assimilationsleistung kann also — wenigstens im oben angeführten Beispiel — gar nicht die Rede sein.

An zweiter Stelle wenden wir uns der Frage nach den Unterschieden in der Assimilationsintensität roter und grüner Blätter zu. Bevor wir aber mit der Besprechung der diesbezüglichen Versuche einen Anfang machen, mögen einige Bemerkungen über den Verlauf der Assimilationswerte in den jugendlichen Blättern im allgemeinen gemacht werden. Aus der auf S. 90 der schon mehrfach erwähnten Arbeit Willstätters: „Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure" angeführten Tabelle geht hervor, dasz die von einer bestimmten Blattfläche zerlegte Menge Kohlensäure während einer kürzeren oder längeren Zeit nach dem Entfalten der Blätter einen Zuwachs zeigt. Bald ist die Zunahme der Assimilationswerte ziemlich stark, und erreichen sie in kurzer Zeit ein Maximum, um später mehr oder wenig herabzusinken und im erwachsenen Blatt auf einer konstanten Höhe zu verharren. Bald aber weist der Gang der Assimilationswerte im Frühjahr kein Maximum auf, und steigen die Assimilationsbeträge noch während einer längeren Zeit heran. Einige Beispiele findet man in der nächsten Tabelle (Tab. 10).

Ist nun — wie Combes voraussetzt — mit der Anwesenheit des Anthocyans im Gewebe eine niedrige assimilatorische Leistungsfähigkeit des Blattes verknüpft, so geht daraus hervor, dasz der Farbstoff immer aus den Blättern verschwunden sein musz, bevor die Assimilationswerte ihren höchsten Wert erreicht haben.

Hat aber Noack recht, indem er behauptet, dasz die Anthocyanbildung im Licht durch die geringe Assimilationsintensität verursacht wird, so bedeutet das, dasz die Umwandlung Anthocyan — Flavon beendigt sein soll,

bevor die Assimilation zu der Höhe, auf welcher sie sich in der warmen Jahreszeit hält, herangestiegen ist.

TABELLE 10.

Verschiedenheiten in dem Gang der Assimilationsleistungen in der Frühjahrsentwicklung der Blätter nach R. Willstätter (mg pro dm^2 pro Stunde)

Datum (1930)	Assimilationsleistung von		
	Acer negundo	Ampelopsis quinquefolia	Quercus robur
1/5	26	—	—
10/5	40	18 *)	—
11/5	—	—	13
19/5	—	38	—
20/5	—	—	24
4/6	30	—	—
8/6	—	28	—
9/6	—	—	38
20/6	—	—	41

Für eine Pflanze wie Quercus robur (siehe die obenstehende Tabelle), bei welcher der Gang der Assimilationswerte im Frühjahr kein Maximum aufweist, ist die Bedingung, welche aus der Theorie Noacks hervorgeht, dieselbe als diejenige, welche von der Theorie Combes' gefordert wird. Bei denjenigen Pflanzen aber, welche sich wie Acer negundo und Ampelopsis quinquefolia verhalten, soll nach Noack das Anthocyan aus den Blättern verschwunden sein, sobald die Assimilationsbeträge bei ihrer ersten starken Ansteigung den sommerlichen Wert überschreiten.

Die Blätter von Ampelopsis quinquefolia färben sich

*) Blätter anthocyanhaltig, rot.

nach Noack also nur dann rot, wenn sie weniger als 28 mg Kohlensäure pro dm² Blattfläche und pro Stunde zerlegen. Und die jugendlich rote Farbe soll sich in die normale grüne geändert haben, bevor die Assimilationsleistung zwischen 10 und 19 Mai an diesem Wert vorbeigeht, und die jugendlichen Blätter das Maximum in der Assimilationsintensität aufweisen.

Die im folgenden angeführten Assimilationsbestimmungen werden uns instand setzen, über die Richtigkeit der Voraussetzungen der genannten Forscher, und über die Frage nach der Bedeutung des Anthocyans für die Photosynthese im allgemeinen ein Urteil abzugeben.

Die an den Acerarten angestellten Versuche ergaben immer für die roten Blätter geringere Assimilationswerte als für die grünen. Bei Acer rubrum und Acer platanoides war der Unterschied beträchtlich; bei Acer pseudoplatanus war er relativ gering. Und obgleich die Chlorophyllanalyse ergab, dasz von einer besonders niedrigen Assimilationsintensität in den roten Blättern gar nicht die Rede ist, so fragt es sich doch — in bezug auf die Lösung der gestellten Aufgabe — ob es immer einen derartigen Unterschied in der assimilatorischen Leistungsfähigkeit gäbe.

So etwas ist jedoch nicht der Fall. Wir ziehen jetzt ein Beispiel heran, wo der genannte Unterschied zu einem Minimum herabgesunken ist. (Tab. 11).

Wenn wir nun einen Vergleich machen zwischen den relativen, von den verschiedenen Blättern enthaltenen Chlorophyllmengen und ihrer assimilatorischen Leistungsfähigkeit, so ergibt sich, dasz die rote Farbe des Laubes sich in eine grüne ändert, zu einer Zeit, wo in den Blättern noch eine reichliche Chlorophyllbildung stattfindet. Der hohe Wert der Assimilationszahl in der Jugend ist aber Ursache, dasz die roten Blätter in diesem Fall zu einer fast gleich intensiven Assimilation befähigt sind

als die grünen. Trotzdem war das rote Versuchsmaterial gar nicht dem Ergrünen nahe; es wies eine tiefbraune Farbe auf, welche von einer Verbreitung des Anthocyans in allen zu gleicher Zeit auch chlorophyllführenden Gewebeteilen des Blattes herrührte. *)

TABELLE 11.

Geringfügige Unterschiede in der Assimilationsleistung der roten und der grünen Blätter von Malus pumila Miller var. domestica C. K. Schneider f. Niedzwetzkyana.

Versuchspflanze	Malus pumila var. Niedswetzkyana		
Farbe der Blätter Datum	rot 17/6	grün 10/6	grün 8/6
Von der Versuchsportion			
Assimilationsleistung (22½′).....	17.5	18.0	16.5 mg
Oberfläche	371	364	324 cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm² ...	14(.2)	14(.8)	15(.3) mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen			
in den Versuchsportionen	45 :	71 :	75
in gleichen Blattflächen	36 :	59 :	69
Verhältnis der Assimilationszahlen ...	1.8 :	1.1 :	1.0

Die Ergebnisse des letzten Versuches machen es wenigstens sehr fraglich, ob die roten Blätter in bezug auf die Assimilationsgrösze tatsächlich immer hinter den grünen zurückbleiben.

Jeder Zweifel in dieser Hinsicht wurde aber beseitigt, indem wir eine Assimilationsbestimmung an den roten, halbroten und grünen Blättern von Chaenomeles (Pirus) japonica (Thunb.) Lindl. machten. Die Blätter dieses zu der

*) Sehe auch S. 366/367.

Familie der Rosaceae gehörenden Strauches zeigen noch eine rote Farbe, wenn sie schon ihre völlige Entwicklung erreicht haben. Dieser Umstand macht es schon an und für sich sehr fraglich, ob es tatsächlich eine Beziehung zwischen den Anthocyanen und dem Assimilationsprozess gebe. Man sehe die nächste Tabelle:

TABELLE 12.

Die roten Blätter assimilieren stärker als die grünen; Chaenomeles japonica (Thunb) Lindl.

Versuchspflanze	Chaenomeles japonica		
Farbe der Blätter Datum	rot 1/6	halbrot 4/6	grün 3/6
Von der Versuchsportion			
Assimilationsleistung	15.2	13.0	12.3 mg
Oberfläche	315	301	284 cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm² ...	14.5	13.0	13.0 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen			
in den Versuchsportionen	35	60	60
in gleichen Blattflächen	33	59	69
Verhältnis der Assimilationszahlen ...	2.0	1.0	1.0

Es geht aus dieser Tabelle hervor, dasz die roten Blätter nicht nur den grünen in ihrer photosynthetischen Wirksamkeit nicht nachstehen, sondern ihnen in dieser Hinsicht bisweilen überlegen sind. Offenbar weist der Gang der Assimilationswerte im Frühjahr bei Chaenomeles ein Maximum auf; zu dieser Zeit enthalten die Blätter aber noch beträchtliche Mengen des roten Farbstoffs. Und wenn in den etwas weiter entwickelten Blättern das Anthocyan zu verschwinden anfängt, *so wird diese Umwand-*

lung von einer (geringen) Erniedrigung der Assimilationsbeträge begleitet.

Ähnliches findet man bei einem der klassischen Beispiele der mit roten Knospen auslaufenden Pflanzen: *Paeonea;* auszerdem ist hier der Chlorophyllgehalt bei den roten Blättern gröszer als bei den grünen:

TABELLE 13.

Die roten Blätter weisen neben einer gröszeren Assimilationsfähigkeit auch einen gröszeren Chlorophyllgehalt auf als die grünen (Paeonia albiflora Pall.)

Versuchspflanze	Paeonea albiflora				
Farbe der Blätter Datum	rot 15/5	grün 16/5	rot 13/5	grün 10/5	
Von der Versuchsportion					
Assimilationsleistung (22½′) ..	18.6	19.3	17.1	18.7	mg
Oberfläche.................	195	269	328	381	cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm².	28	22	16	15	mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen					
in den Versuchsportionen.....	70 :	63	60 :	53	
in gleichen Blattflächen	97 :	79	91 :	68	
Verhältnis der Assimilationszahlen.	1.1 :	1.0	0.8 :	1.0	

Die Verhältnisse liegen hier offenbar ganz ähnlich wie bei Chaenomeles; eine Abnahme im Chlorophyllgehalt einer bestimmten Blattfläche wurde von W i l s t ä t t e r auch bei einigen andern Pflanzen in ihrer jugendlichen Entwicklung beobachtet (Aesculus Hippocastanum, Sambucus nigra).

Durch die Ergebnisse der letzten Versuche wird zu gleicher Zeit der Einwand widerlegt, dasz die roten und grünen Blätter von Malus pumila nur deshalb in unseren

Versuchen zu derselben Assimilation befähigt waren, weil die ersteren einen Lichtbedarf erlitten. Wäre das der Fall, so könnten die roten Blätter nie zu einer intensiveren Assimilation befähigt sein als die grünen.

Die Voraussetzung einer physiologischen Beziehung zwischen den Anthocyanen und dem Assimilationsvorgang wird also von der experimentellen Untersuchung nicht gestützt. Dasz es nun andererseits auch Pflanzen gibt, deren sich entwickelnde rote Blätter immer eine geringere assimilatorische Leistungsfähigkeit zeigen als die grünen, etwas älteren, ist mit dieser Schluszfolgerung nicht im Widerspruch, sondern vielmehr im Einklang. Die Bildung des roten Farbstoffes und die Zerlegung der Kohlensäure sind offenbar zwei voneinander ganz unabhängige Erscheinungen. Das Ergrünen des jugendlichen roten Laubes findet in ganz willkürlichen Entwicklungsperioden statt: Bald, wenn die Blätter schon ihre maximale Assimilationsfähigkeit erreicht haben; und bald auch, wenn dieselbe nur noch wenig ausgebildet ist. Das erste war der Fall bei Chaenomeles, Paeonea und Malus; das letzte findet man z.B. bei Berberis Neuberti Baumann. Fast während des ganzen Sommers findet man an diesem Strauch neben den erwachsenen, dunkelgrüngefärbten Blättern auch jugendliche, deren Chlorophyllgehalt noch relativ gering ist. Diese letzten zeigen in einer bestimmten Periode ihres Alters eine rote, von Anthocyan herrührende Farbe. Assimilationsmessungen an drei verschiedenen Blattportionen ergaben, dasz die roten Blätter pro Oberflächeneinheit weniger Kohlensäure zerlegen als die grünen. Es gibt aber keine Gründe, diese Erscheinung dem Anthocyan zuzuschreiben: denn mit der geringen Assimilationsfähigkeit des roten Laubes geht ebenfalls ein niedriger Chlorophyllgehalt zusammen. Im Lichte der bei den vorhergehenden Versuchspflanzen gemachten Beobachtungen betrachten wir Berberis als eine Pflanze, bei welcher das Anthocyan

aus den Blättern verschwunden ist, geraume Zeit bevor sie erwachsen sind.

TABELLE 14.

Die röten Blätter assimilieren weniger intensiv als die grünen; sie weisen aber auch einen geringeren Chlorophyllgehalt auf (Berberis Neuberti Baumann)

Versuchsmaterial	Berberis Neuberti		
Farbe der Blätter Datum	rot 18/6	grün 19/6	grün 25/6
Von der Versuchsportion			
Assimilationsleistung (22½′).....	12.3	12.5	16.1 mg
Oberfläche	306	248	278 cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm² ...	12	15	17 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen			
in den Versuchsportionen	100 :	103 :	104
in gleichen Blattflächen	65 :	83 :	75
Verhältnis der Assimilationszahlen ...	*) 1.0 :	*) 1.0 :	*) 1.3

Auch die roten Blätter der im Anfang dieses Paragraphen besprochenen Acerarten sind vielleicht in derselben Weise zu betrachten.

Man soll sich in dieser Hinsicht aber vor übereilten Schluszfolgerungen hüten. So gibt Combes z.B. an, dasz bei den jugendlich roten Blättern von Ailanthus glandulosa die Fähigkeit zur Assimilation nur noch wenig ausgebildet ist; erst wenn die rote Farbe für die gewöhnliche grüne Platz gemacht hat, soll die Assimilation sich auf ihren normalen Wert eingestellt haben. Die folgenden Daten sind den Angaben Combes' entnommen:

Assimilation der roten und der grünen Blätter von Ailanthus glandulosa Desf. nach Combes

Farbe der Blätter	Assimilation pro Stunde und pro 22½ cm^2
rot	0.00304 g
grün	0.01220 g

Chlorophyllanalysen hat Combes offenbar nicht angestellt; schon deshalb ist den Schlusz, dasz die niedrigen Assimilationswerte mit der Anwesenheit des Anthocyans in den jungen Blättern zusammenhängen, sehr verfrüht. Es fehlt aber auch jede Angabe über das Alter der Blätter, und es ist also sehr fraglich, ob der Unterschied, der von Combes in bezug auf die Assimilation zwischen den roten und den grünen Blättern beobachtet wurde, wenigstens nicht viel geringer gewesen wäre, falls er gearbeitet hätte mit roten Blättern, welche dem Ergrünen nahe waren, und mit grünen, aus welchen das Anthocyan eben verschwunden war.

Zur Prüfung der Versuche Combes' stellten wir zahlreiche Assimilationsbestimmungen an Ailanthus glandulosa Desf. an. Im Frühjahr findet man die roten und die grünen Blättchen an diesem Baum in den verschiedensten Stadien ihrer Entwicklung nebeneinander. Die jungen Blätter an den Spitzen der Zweigen sind ganz rot gefärbt; die etwas älteren Blätter enthalten das Anthocyan nur in ihren jüngsten Blättchen. Wenn man nun die Assimilationsleistung der roten und der grünen Blättchen miteinander vergleicht, so wird man sehr oft finden, dasz die Angaben von Combes richting sind. Nur wenn man das rote Material möglichst weit entwickelt wählt, erhält man Abweichungen.

In der nächsten Tabelle weisen die roten Blätter in vielen Fällen einen geringeren Assimilationswert auf als

die grünen. Jedoch wurde die gröszte Assimilationsleistung nicht bei den grünen, sondern bei den roten Blättchen beobachtet; und gerade in diesem Falle fügten wir zu unseren Notizen zur Umschreibung des Versuchsmaterials die Worte: rot, möglichst alt, hinzu. Auch der Wert 13 des dritten Versuches wurde von den roten Blättern des fünften und sechsten Versuches erreicht. Auszerdem sind die Unterschiede zwischen der Assimilationsfähigkeit der roten und der grünen Blättchen in den übrigen Versuchen weit geringer als von Combes angegeben wurde. Und wir können die Angaben dieses Forschers also nicht bestätigen.

TABELLE 15.
Assimilationswerte der roten und der grünen Blättchen von Ailanthus glandulosa Desf.

No.	Datum	Farbe und Umschreibung der Blätter	Assimilationsleistung pro 22½′; 3 dm^2 (mg)
1.	17/6	rot	12
2.	18/6	rot	10
3.	20/6	grün	13
4.	21/6	grün	14
5.	2/7	rot	13
6.	4/7	rot	13
7.	6/7	grün	17
8.	8/7	rot, möglichst alt	18
9.	9/7	rot, sehr jung	10
10.	13/7	grün	16
13.	15/7	grün	16
15.	16/7	rot	13

Bis hierher wurde die Lösung des Problems immer in der Weise herbeigeführt, indem wir uns bestrebten den Gang der Assimilationswerte in den jugendlich roten Blättern näher zu verfolgen. Im vierten Paragraphen dieses Abschnitts wurde aber dargetan, dasz es noch ein anderes Verfahren gibt, zu demselben Ziel zu geraten, indem man

als Versuchspflanze ein Gewächs benutzt, das neben jugendlich roten auch jugendlich grüne Blätter im selben Stadium ihrer Entwicklung besitzt, wie z.B. Polygonum cuspidatum Sieb. Wir bestimmten die Assimilationsleistung der roten und halbroten Blätter der eben ausgelaufenen Sprosse, und daneben diejenige der grünen Blätter, welche sich an den Spitzen der Stengel der etwas weiter entwickelten Individuen befinden.

TABELLE 16.

Die Assimilationsleistung der jugendlich roten und der gleich weit entwickelten grünen Blätter von Polygonum cuspidatum Sieb.

Versuchspflanze	Polygonum cuspidatum		
Farbe der Blätter Datum	rot 7/5	halbrot 8/5	grün 9/5
Von der Versuchsportion			
Assimilationsleistung (22½′).....	16.0	19.3	15.6 mg
Oberfläche	400	386	392 cm^2
Assimilation pro 22½′ und 3 dm^2 ...	12	15	12 mg

Auch hier geraten wir also wieder zu derselben Schluszfolgerung, dasz nämlich die Bildung und Umwandlung des Anthocyans gar nicht von der Intensität der Kohlensäureassimilation, sondern von ganz andern Faktoren beherrscht wird.

Etwas Ähnliches findet man bei dem Laub von Cornus purpusii Koehne. In der zweiten Hälfte des Sommers sind die Blätter dieser Pflanze besonders im oberen Teil des Strauches stark rot gefärbt. Diese Erscheinung hält aber die Mitte zwischen dem Auftreten des Farbstoffes im Frühling und der herbstlichen Anthocyanbildung. Denn die roten Blätter sehen nicht ganz normal mehr aus:

sie haben — offenbar des nahenden Herbstes wegen — schon einen Teil ihres Chlorophylls verloren. Auch im unteren Teil des Strauches weisen viele Blätter nicht mehr ihren normalen Chlorophyllgehalt auf; jedoch wird die Zerlegung des grünen Farbstoffes hier nicht von einer Anthocyansynthese begleitet. Auf die Erklärung dieser Erscheinung musz hier verzichtet werden; wir stellten mit den verschiedenen Blätterarten — welche sich selbstverständlich zu gleicher Zeit an derselben Pflanze nebeneinander befinden — fünf Assimilationsversuche an. Die Ergebnisse findet man in der nächsten Tabelle:

TABELLE 16*a*.

Assimilationsleistung der gleich weit entwickelten roten und grünen Blätter von Cornus purpusii Koehne

Versuchspflanze	Cornus purpusii				
Farbe und Beschaffenheit der Blätter	normal grün	halb-grün	fast ver-gilbt	halb-rot	tiefrot
Datum	7/8	8/8	15/8	16/8	6/8
Von der Versuchsportion					
Assimilationsleistung	7.8	18.5	16.0	17.5	16.0 mg
Oberfläche	361	338	340	343	363 cm^2
Assimilation pro 22½′ und 3 dm^2	17	16.5	14	15.5	13.5 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen					
in den Versuchsportionen .	60 :	65 :	55 :	65 :	43
in gleichen Blattflächen....	55 :	38 :	32 :	38 :	24
Verhältnis der Assimilationszahlen....................	1.0 :	1.4 :	1.4 :	1.3 :	1.8

Auch hier wird die Anthocyanbildung also nicht von der Assimilationsintensität beherrscht; ist diese doch bei den roten Blättern des vierten Versuches gröszer als bei den fast vergilbten im zweiten Versuch.

2. *Die herbstlich roten Blätter.*

„Die Fähigkeit zur Assimilation", sagt Willstätter, gibt im Herbst ein ungemein wechselndes Bild von Veränderungen". Jedoch kann man nach diesem Forscher, in bezug auf die photosynthetische Wirksamkeit der Blätter im Spätsommer, unterscheiden zwischen Blättern, welche schon frühzeitig ihr Chlorophyll verlieren, und solchen, welche ihre grüne Farbe noch während einer längeren Zeit beibehalten. Im ersten Fall — beim vergilbenden Laube — geht mit der Abnahme im Chlorophyllgehalt entweder ein Herabsinken der Assimilationswerte parallel, wodurch die Assimilationszahle etwa konstant bleiben; oder die Assimilationsleistung erhält sich — trotz der eintretenden Gelbfärbung, auf ihrer sommerlichen Höhe, folglich weisen die Assimilationszahlen während dieser Periode einen hohen Wert auf. Im zweiten Falle aber — beim grünbleibenden Laube — geht, ungeachtet der noch grünen Farbe der Blätter, die Intensität der Assimilation früher oder später zurück, und zeigt also die auf 1 g Chlorophyll bezogene assimilatorische Leistungsfähigkeit auch einen niedrigen Wert.

Wenn wir diese Beobachtungen Willstätters zu der Lösung unseres Problems in Beziehung setzen, so fragt es sich an erster Stelle, ob die herbstlich roten Blätter in irgend einer Hinsicht ein anderes Verhalten zeigen. Etwas genauer definiert, könnte man die Frage wie folgt formulieren: Wird die herbstliche Anthocyanbildung etwa von einem mehr oder weniger scharfen Rückgang in den Assimilationsbeträgen begleitet (Combes)? Oder in bezug auf die Anschauungen Noacks: Ist die von den herbstlich roten Blättern zerlegte Menge Kohlensäure immer niedriger als diejenige der grünen?

Zur Beantwortung dieser Frage ziehen wir zuerst einige Versuche heran, welche wir an einem der bekanntesten Beispiele der herbstlich roten Pflanzen machten; nämlich

an Quercus rubra L. *) Die Blätter dieses Baumes erhalten im Herbst eine schöne rotbraune Farbe, welche durch eine intensive Anthocyanbildung in fast allen Teilen der Blätter verursacht wird. Zu gleicher Zeit hat aber auch die herbstliche Umwandlung des grünen Blattfarbstoffes angefangen; und man kann also sagen, dasz in den Blättern von Quercus rubra das Vergilben mit dem Rotwerden zusammenfällt. Aus den angestellten Versuchen geht denn auch hervor, dasz die Blätter ganz dasselbe Verhalten zeigen, wie das vergilbende Laub:

TABELLE 17.

Erhöhung der Assimilationszahlen bei den herbstlich roten Blättern von Quercus rubra L.

Versuchspflanze	Quercus rubra				
Farbe der Blätter Datum	grün 8/9	grün 12/10	braun 9/9	braun 11/10	rot 10/9
Von der Versuchsportion Assimilationsleistung (22½′)	17.0	16.0	7.0	12.0	6.0 mg
Oberfläche	279	261	250	303	270 cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm²	18	18	8	12	7 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen					
in den Versuchsportionen .	—	: 100	: —	: 34	: 28
in gleichen Blattflächen....	—	: 115	: —	: 34	: 31
Verhältnis der Assimilationszahlen....................	— :	1.4 :	— :	2.2 :	1.0

Es geht also anfangs mit dem Abbau des Chlorophylls nicht eine damit übereinstimmende Erniedrigung der

*) Herrn Oberförster W. H. de Beaufort in Maarn, der mir den Eichenbestand des Landgutes „Noordhout" bei Driebergen zu diesem Zweck zur Verfügung stellte, spreche ich hier meinen besten Dank aus.

Assimilationswerte zusammen; folglich wächst die Assimilationszahl auf mehr als das Doppelte heran. Später im fünften Versuch hat auch die Assimilation zum grószten Teil nachgelassen und sinkt auch die Assimilationszahl wieder zu niedrigen Werten herab.

Auch das Verhalten des grünbleibenden Laubes findet man bei den anthocyanführenden Pflanzen zurück. So färbt sich das Palissadenparenchym von Liquidambar styraciflua L. im Herbst tiefrot; die Anthocyanbildung wird aber anfangs nur von einer geringfügigen Zerlegung des Chlorophylls begleitet. Die Erniedrigung der Assimilationsbeträge geht damit entweder parallel oder sie ist gröszer als sich aus dem Abbau des Chlorophylls erwarten liesze. Das Maximum im herbstlichen Verlauf der Assimilationswerte findet man hier also nicht in dem Masze, wie es bei Quercus der Fall war:

TABELLE 18.

Erniedrigung der Assimilationszahlen bei den herbstlich roten Blättern von Liquidambar styraciflua L.

Versuchspflanze	Liquidambar styraciflua		
Farbe der Blätter Datum	grün 28/9	rot 29/9	tiefrot 27/9
Von der Versuchsportion			
Assimilationsleistung (22½′).....	16.5	16.5	10.5 mg
Oberfläche	257	305	274 cm²
Assimilation pro 22½′ und 3 dm² ...	22	16	11.5 mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen			
in den Versuchsportionen	150	: 110	: 133
in gleichen Blattflächen	175	: 108	: 146
Verhältnis der Assimilationszahlen ...	1.0 :	1.2 :	1.7

In den beiden oben besprochenen Versuchsreihen stehen die roten Blätter in bezug auf die Intensität ihrer Assimilation weit hinter den grünen zurück. Und ähnlich wie bei den Versuchen im Frühjahr fragt es sich, ob es auch unter den herbstlich roten Blättern solche gibt, welche zu der gleichen Assimilation befähigt sind wie die grünen; m.a.W., ob sich im Herbst auch anthocyanhaltige Blätter finden lassen, bei welchen die rote Farbe zu Tage tritt zu einer Zeit, wo von einem herbstlichen Herabsinken der Assimilationswerte noch gar nichts zu bemerken ist. Die an Deutzia crenata angestellten Versuche (Tab. 19; S. 377) beweisen aber dasz der Unterschied in der photosynthetischen Aktivität zu einem Minimum herabsinken kann *).

Es ist uns aber nicht gelungen, herbstlich rote Blätter zu finden, welche dieselbe Fähigkeit zur Assimilation aufwiesen als die noch grünen. Es geht aber daraus noch nicht hervor, dasz die niedrigen Assimilationswerte mit der Anwesenheit des Anthocyans zusammenhängen; denn die Anthocyanbildung wird in den obenstehenden Beispielen immer von einem mehr oder weniger weitgehenden Abbau des Chlorophylls begleitet. Und es ist gar nicht zu entscheiden, wiesehr die Assimilation von diesem und

*) Vielleicht wäre man geneigt, den Versuchen, welche an Deutzia crenata angestellt wurden, nur einen geringen Wert beizulegen, weil bei dieser Pflanze die Anthocyanbildung hauptsächlich in der Epidermis statt findet. Zweifelsohne bietet die verschiedene Lokaliesierung des Anthocyans und des Chlorophylls der Voraussetzung einer physiologischen Beziehung zwischen dem roten Farbstoff und dem Prozess der Kohlensäureassimilation nicht geringe Schwierigkeiten; und erheben sich auch von dieser Seite viele Einwände. Ähnlich wie Noack und die meisten der älteren Forscher haben wir diesen Gegenstand auszer Betracht gelassen; erstens weil die Lösung des Problems von dieser Seite zurzeit ziemlich aussichtslos ist, und zweitens weil in der vorliegenden Arbeit gezeigt wird, dasz es auch — ohne dasz man sich den verwickelten Erscheinungen auf diesem Gebiete zuwendet — viele Gründe gibt, welche zu einer Bekämpfung der Theorien Noacks veranlassen.

andern inneren Faktoren im herbstlichen Blatt beeinfluszt. wird. Wir beobachten im Spätsommer nur ein Zusammengehen verschiedener Erscheinungen (niedrige Assimilationswerte und Rotfärbung) und es gelang uns nicht sie zu trennen. Im Frühjahr aber zeigen die jugendlichen Blätter ganz dieselben Erscheinungen; dort erwies sich ihre Trennung aber als eine leichte Aufgabe.

TABELLE 19.

Geringfügige Unterschiede in der Assimilationsleistung der roten und der grünen Blätter von Deutzia crenata Sieb et Zucc.

Versuchspflanze	Deutzia crenata				
Farbe der Blätter Datum	grün grün	grün 19/10	rot 17/10	rot 18/10	
Von der Versuchsportion					
Assimilationsleistung	20	18.5	17	12	mg
Oberfläche..................	271	288	285	267	cm^2
Assimilation pro $22\frac{1}{2}'$ und 3 dm^2.	22	19	18	13	mg
Verhältnis der Chlorophyllmengen					
in den Versuchsportionen.....	100	111	80	64	
in gleichen Blattflächen	110	84	71	71	
Verhältnis der Assimilationszahlen.	1.0	0.8	1.1	1.1	

Wir beharren also bei unserer Schlusfolgerung, dasz nämlich die Anthocyanbildung und der Vorgang der Kohlensäurezerlegung zwei von einander ganz unabhängige Erscheinungen sind.

IV. ABSCHNITT.

ÜBER DIE BILDUNGSWEISE DES ANTHOCYANS IN DEN KEIMLINGEN VON FAGOPYRUM ESCULENTUM MOENCH.

§ 1. Einleitung.

Es liegen also keine Gründe vor, dem Anthocyan eine Funktion in den Prozessen der Photosynthese zuzuschreiben. Durch das Studium der Assimilationsintensität roter Blätter eröffnen sich keine neuen Gesichtspunkte in bezug auf die Bildungsweise des roten Farbstoffes in der Pflanze. Daneben sind unsere zurzeit noch sehr mangelhaften Kenntnisse von den chemischen Eigenschaften der Anthocyane und von ihren Chromogenen die Ursache, dasz auch die Versuche das Problem mittels chemischer Methoden zu lösen, ohne Erfolg blieben. Wünscht man also einen tieferen Einblick in die pflanzliche Anthocyansynthese zu erhalten, so hat man entweder zuvor die Schwierigkeiten, welche mit der chemischen Bearbeitung dieser Fragen verknüpft sind, zu überwinden, oder es ist ein Verfahren zu suchen, bei welchem diese Schwierigkeiten in der einen oder andern Weise umgangen werden.

In diesem Abschnitt werden nun einige Untersuchungen besprochen, mit deren Anstellung auf eine Erläuterung einiger Punkte im Prozess der Anthocyanbildung hingezielt wurde. Dabei benutzten wir die zweite der soebengenannten Methoden, indem wir auf die Beantwortung verschiedener chemischen Fragen verzichteten, und uns einer vielfach beobachteten physiologischen Eigenschaft des betreffenden Vorgangs bedienten, nämlich seiner Abhängigkeit von dem Licht und von der Temperatur.

Es ist eine schon längst bekannte Tatsache, dasz die Pflanzen sich in sehr vielen Fällen umso stärker rot färben, je höher die Lichtintensität und je niedriger die Temperatur ist. Es gibt aber im Stoffwechsel viele Prozesse, welche

entweder in einer direkten Weise oder auch indirekt von diesen beiden Faktoren beeinfluszt werden. Folglich ist die experimentelle Bearbeitung dieser Seite des Anthocyanproblems mit groszen Schwierigkeiten verknüpft.

Sehr oft hat man das Auftreten des roten Farbstoffes unter diesen Umständen — starke Beleuchtung und niedrige Temperatur — auf eine Zuckeranhäufung im Organismus zurückgeführt. Nun ist es nicht unwahrscheinlich, dasz die genannten Auszenfaktoren einen derartigen Einflusz auf die Pflanze auszuüben vermögen. Einerseits findet bei hoher Lichtintensität eine starke Kohlenhydratbildung statt, und andererseits könnte man sich vorstellen, dasz bei einer niedrigen Temperatur die gebildeten Zucker vom Blatte nicht weiter verarbeitet werden. Es werden durch die Zuckeranhäufung zweifelsohne Bedingungen geschaffen, welche — wie Overton und Combes einwandfrei dargetan haben — der Anthocyanbildung günstig sind. Mehrere Forscher haben denn auch das vielfache Vorkommen des roten Farbstoffes in alpinen Gegenden aus einem Zusammengehen der hellen und relativ warmen Tage mit den kalten Nächten zu erklären versucht.

Die Erscheinungen sind aber zu kompliziert um eine einfache Erklärung zu ermöglichen. So beobachtete Overton [91]), dasz die Blätter von Hydrocharis morsus ranae sich auf eine Zuckerlösung umso stärker rot färben, je niedriger die Temperatur ist. Ob man aber das Auftreten des Anthocyans unter diesen Umständen einer von der niedrigen Temperatur verursachten besonders starken Zuckeranhäufung in der Pflanze zuzuschreiben habe, musz wenigstens sehr fraglich heiszen.

Ebensowenig sind die Versuche Bonniers [92]) in dieser Hinsicht beweisend. Dieser Forscher beobachtete, dasz mehrere Pflanzen, wenn man sie am Tag einer starken Beleuchtung, und nachts einer niedrigen Temperatur aussetzt, ein alpines Aussehen erhalten, und dasz auch die

Rotfärbung unter diesen Umständen gefordert wird.

Wie schon bemerkt wurde, ist es nicht unwahrscheinlich, dasz in dieser Weise die Konzentration des Zuckers im Gewebe ansteigt. Es ist durchaus unmöglich zu entscheiden, ob, und wenn ja, in welcher Weise diese Erscheinung mit der Bildung des roten Farbstoffes zusammenhängt. Und eine Erforschung des Problems von dieser Seite ist zurzeit ziemlich aussichtslos.

Es gibt aber auch Fälle, wo der Einflusz des Lichtes nicht in dieser Weise erklärt werden kann. So wurde z.B. von Mirande (1922) [93, 94]) neuerdings eine Anthocyanbildung in den Zwiebeln von Lilium candidum beobachtet, welche nur bei einer bestimmten Lichtintensität stattfinden soll.

In derartigen Fällen ist ein Zusammenhang mit den Prozessen der Photosynthese ausgeschlossen. Aus den wenigen in dieser Hinsicht angestellten Arbeiten ist aber kaum ersichtlich, wie man sich einen derartigen Einflusz des Lichtes und der Temperatur zu denken habe.

L. Linsbauer (1907) [95]) untersuchte in einer mehr exakten Weise den Einflusz des Lichtes auf die im Dunkeln gezüchteten Keimlinge von Fagopyrum esculentum. Er setzte sie dem Lichte einer Bogenlampe aus und beobachtete, dasz eine kurzzeitige Beleuchtung der Keimlinge genügt, damit sie sich nachher im Dunkeln rot färben. Je kurzer die Beleuchtungsdauer, und je niedriger die Lichtintensität, umso länger dauert es, bevor die Rotfärbung an den Keimlingen sichtbar wird. Aus seinen Beobachtungen zog Linsbauer die merkwürdige Schluszfolgerung, dasz der Rötungsvorgang ein typischer Reizprozess sei, und aus diesem Gesichtspunkt erforscht werden soll.

In den späteren Jahren hat Kurt Noack [96]) in einer seiner schon mehrfach erwähnten Abhandlungen das Problem in Angriff genommen. Er setzte die Blätter von Polygonum compactum Hook, bei wechselnden Tempe-

raturen dem Lichte aus, oder hielt sie während mehrerer Stunden in einem Dunkelraum hoher oder niedriger Temperatur. Aus seinen Beobachtungen schlosz er, dasz in den Blättern der genannten Pflanze eine gröszere Menge einer Oxydationsstufe des Anthocyans vorhanden sei, die auf photochemischem Weg und daher in weitgehender Unabhängigkeit von der Temperatur wieder vital zu isomerisiertem Anthocyanin reduziert werde. Im Dunkeln soll das Anthocyan in Abhängigkeit von der Temperatur wieder zu der gelben Oxydationsstufe oxydiert werden.

Zweifelsohne hat eine derartige Erklärungsweise der beobachteten Erscheinungen mehr Aussicht auf Erfolg als diejenige Linsbauers. Andererseits musz aber bemerkt werden, dasz in den experimentellen Methoden Noacks doch immer etwas Unsicheres steckt. Zum Nachweis vom (farblosen) isomerisierten Anthocyanidin erhitzte er das amylalkoholische Blätterextrakt mit etwas Salzsäure und beurteilte er die Nuance der gebildeten roten Farbe. Von dem chemischen Charakter dieser Umwandlung ist uns aber nichts bekannt; und wie schon oben *) dargetan wurde, schreibt Combes die rote Farbe gar nicht einem Anthocyan zu, sondern den Phlobaphenen welche durch Erwärmung mit Salzsäure aus den ungefärbten Phlobatanninen hervorgehen sollen.

In den Versuchen, deren Besprechung in diesem Abschnitt stattfinden wird, haben wir versucht, diese Schwierigkeiten zu umgehen, indem wir die Menge eines Anthocyanchromogens, welche in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum anwesend ist, beurteilten nach der Menge des Farbstoffes, welche die Pflanze selbst daraus zu bilden vermag. In dieser Weise ist es keinem Zweifel

*) S. 320.

unterlegen, ob die Umsetzung Chromogen-Anthocyan wohl in der richtigen Weise stattfindet.

Wir schreiten jetzt zu der Besprechung der diesbezüglichen Versuche. Es wird sich dabei zeigen, dasz die Anthocyanbildung in den Buchweizenkeimlingen ein recht komplizierter Vorgang ist; andererseits aber beobachteten wir, ähnlich wie Noack, dasz eine chemische Erklärungsweise uns gestattet dem Problem nahe beizukommen.

§ 2. Methodisches.

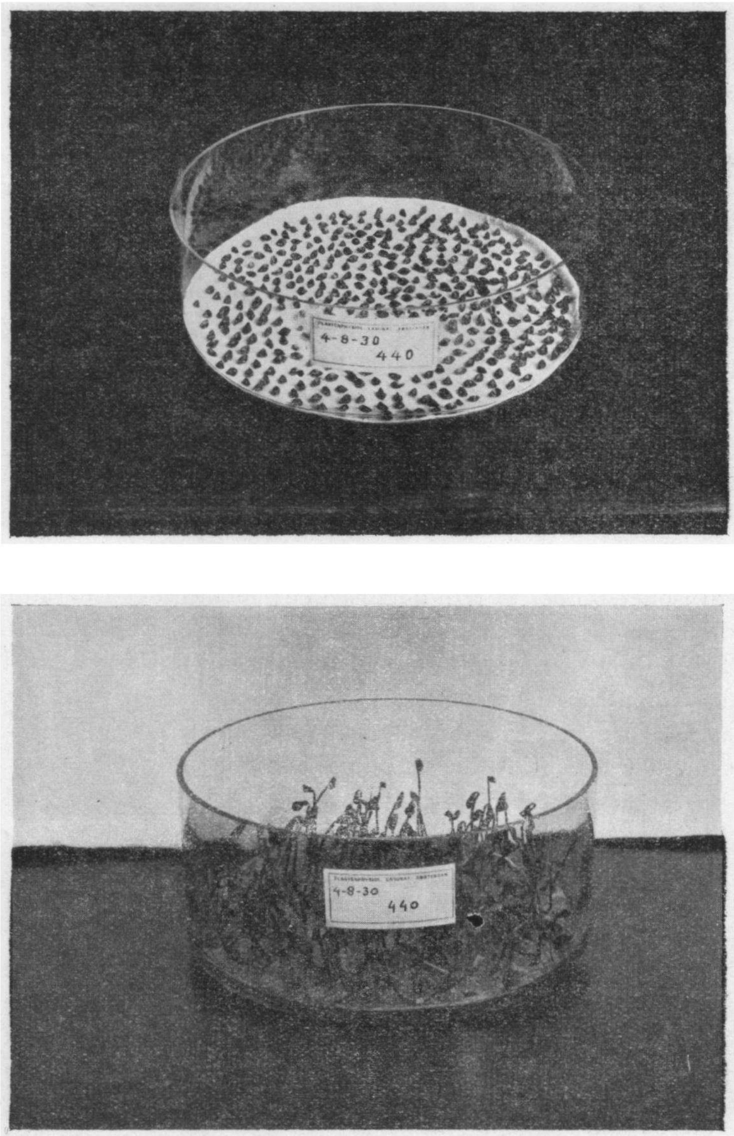
Als Versuchsmaterial ist ein Objekt heranzuziehen dasz man zu jeder Zeit in beliebig groszen Mengen erhalten kann, und in welchem — aus den im vorigen Paragraphen genannten Gründen — die Anthocyanbildung getrennt von der Chlorophyllbildung vor sich geht. Als solches wählten wir die etwa sechs oder sieben Tage alten, in der Dunkelkammer gezüchteten, stark etiolierten Keimlinge von Fagopyrum esculentum Moench. Gut keimkräftige Buchweizensamen sind aber, wenigstens in Holland, recht schwierig zu haben. Hauptsächlich wegen der groszen Empfindlichkeit der jungen Pflanze für Nachtfröste wird in Holland wenig Buchweizenbau mehr getrieben. An dieser Stelle spreche ich den Herren Sluis en Groot, Samenhändlern, Enkhuizen (Holland) meinen aufrichtigen Dank aus für die Mühe, welche sie sich gegeben haben, mir zu dem Material zu verhelfen. Später erhielten wir durch die freundliche Bemühungen von Herrn Prof. Dr. O. Appel die Adresse der Firma Metz & Co. Berlin-Steglitz, welche uns nachher auch 5 kg Buchweizensamen zu liefern gewuszt hat.

Läszt man die Samen im Dunkeln keimen, so sehen die Keimlinge blaszgelb aus. Wenigstens die Hypokotyle enthalten weder Chlorophyll noch Anthocyan. Die zum Teil noch von der Samenhaut umschlossenen Keimblätter dagegen weisen an vereinzelten Stellen eine schwach

rötliche Farbe auf. Setzt man die Keimpflanzen dem direkten Sonnenlicht aus, so fängt nach kürzerer oder längerer Zeit — je nach den äuszeren Umständen — ein Rötungsprozess an, der in den Hypokotylen gesondert vor sich geht, in den Keimblättern dagegen von einer Chlorophyllbildung begleitet wird. Für die letzteren läszt es sich also ohne weiteres nicht entscheiden, ob das Licht nur einen direkten Einflusz auf die Anthocyansynthese ausübt, oder ob es durch die von der einsetzenden Kohlensäureassimilation bewirkte Zuckerbildung auch eine indirekte Rolle spielt. Es handelt sich bei unseren Versuchen aber um den direkten Einflusz des Lichtes; deshalb präzisiert sich die gestellte Aufgabe auf eine nähere Erforschung der Weise, in welcher die Bildung des roten Farbstoffes in den Hypokotylen der Keimlinge von Fagopyrum esculentum beeinfluszt wird.

Wir haben uns nicht bestrebt, das betreffende Anthocyan zu isolieren oder es rein darzustellen; auch in der Literatur findet man keine Angaben in bezug auf seine chemische Struktur. Somit war auf eine quantitative Anthocyanbestimmung zu verzichten; es werden in diesem Abschnitt nur bestimmte Farbstoffmengen kolorimetrisch mit einander verglichen. Die Zahlen, welche die Farbstoffkonzentration einer Lösung andeuten, haben also an und für sich keinen Wert: Es sind nur Verhältniszahlen.

Selbstverständlich verhindert dieser Umstand nicht, dasz man sie auf eine bestimmte Einheit zu beziehen hat. Aus unseren Versuchen ergab sich nun, dasz der Anthocyangehalt einer Anzahl Hypokotyle sich ganz gut pro Hypokotyl berechnen läszt, falls diese Anzahl nicht zu gering ist und die zur Keimung herangezogenen Samen von möglichst gleicher Beschaffenheit sind. Die uns von den Händlern gelieferten Samen genügten dieser Bedingung aber durchaus nicht. Zur Erhaltung eines einheitlichen Materials wurden sie in bezug auf ihre Grösze und auch



Die Buchweizenkultur.

zur Beseitigung vertrockneter und verkümmerter Exemplare einer scharfen Selektion unterworfen, wodurch etwa die Hälfte ausfiel. Dadurch wurde aber erreicht, dasz eine bestimmte, nicht zu geringe Anzahl Samen jedesmal dasselbe Gewicht aufwies: In 10 g Samen sind je nach der Herkunft 440—455, oder 480—495 Samenkörner enthalten.

Die nähere Ausarbeitung des Verfahrens gestaltet sich in folgender Weise:

Die Samen werden zu keimen gelegt in geräumigen Schalen, von etwa 20—22 cm Durchmesser und 7—8 cm Höhe, deren Boden mit einer doppelten Schicht Filtrierpapier überdeckt ist. Pro Schale wird jedesmal eine Quantität von 10 g Samen ausgesät. Damit die heranwachsenden Keimlinge einander in ihrem Wachstum möglichst wenig hindern, werden die Samen in regelmäsziger Weise auf dem Filtrierpapier ausgebreitet. Während der Keimung werden die Schalen gut feucht gehalten, dem Austrocknen wird vorgebeugt, indem wir sie mit einer passenden Glasplatte abschlieszen. Schon nach einigen Tagen zeigt es sich, dasz in dem günstigsten Falle nur 75 % der Samen keimkräftig ist; später war dieser Teil noch erheblich geringer (bisweilen nur 50 %). Nach etwa sechs Tagen haben die Keimlinge eine ungefähre Länge von etwa 6—7 cm erreicht; bei diesem Alter werden sie dem Licht ausgesetzt. Als solches benutzten wir Tageslicht, denn nur unter diesen Umständen erhalten die Keimlinge in relativ kurzer Zeit beträchtliche Mengen des Farbstoffes. Am besten bringt man die Schalen ganz ins Freie, damit die Lichtintensität auf jedem Punkt der Schale und für die verschiedenen Schalen untereinander möglichst dieselbe ist.

Wünscht man nun in irgend einem Augenblick die Farbstoffmenge, welche in den Keimlingen einer Schale enthalten ist, zu extrahieren, so werden von jeder der Keimpflanzen die Kotyle mit einer Schere sorgfältig

abgetrennt, und die Anzahl der normal aufgewachsenen Keimlinge bestimmt; denn nur diese werden zu dem kolorimetrischen Vergleich herangezogen. Die Stiele werden in einem Morser mit — durch Erwärmen mit Salzsäure und nachheriges Glühen — gereinigtem Sand zerrieben. Man bringt jetzt den Brei in einen Buchnertrichter und filtriert ihn über eine Talkschicht in eine Saugflasche ab, indem man mit einigen Portionen alkoholische Salzsäure unter fortwährender Auflockerung der Masse auf der Nutsche bis zu ihrer Entfärbung nachwäscht. Das Filtrat zeigt je nach der Art und der Menge der beigemischten gelben Begleitstoffe eine orangerote bis anthocyanartige Farbe. Zu der in dieser Weise erhaltenen Lösung wird 100 ccm Aether und 100 ccm Amylalkohol hinzugefügt. Wenn man nun Wasser einflieszen läszt, beobachtet man eine Schichtung, indem das Amylalkohol-Aethergemisch sich gelb oder grüngelb gefärbt abtrennt. Bisweilen enthält diese Schicht noch ein wenig Anthocyan, das durch Umschütteln mit einigen ccm Wasser leicht entfernt und der Hauptlösung hinzugefügt wird. Diese zeigt jetzt eine schöne anthocyanartige Farbe; nur wenn dem ursprünglichen, rohen Extrakt sehr viel gelber Farbstoff beigemischt war, ist eine zweite Ausschüttelung mit dem Aether-Amylalkoholgemisch erforderlich. Man läszt die gereinigte Lösung — nach eventueller Filtration — in einen passenden Meszkolben abflieszen und ergänzt sie mit Alkohol bis zur Marke. Sie ist jetzt zu der kolorimetrischen Analyse bereit.

Es zeigt sich nun, dasz die in den unter denselben Umständen gezüchteten und beleuchteten Keimlingen enthaltene Farbstoffmenge nur geringfügige Schwankungen aufweist, falls sie auf die Zahl der extrahierten Hypokotyle umgerechnet wird. Die Abweichungen betragen maximal 10 %, wenn es sich um konzentrierte Farbstofflösungen handelt, und sind etwas gröszer, wenn die extrahierten

Keimlinge nur wenig gefärbt waren. Zu diesem relativ günstigen Resultat hat zweifelsohne auch das Abtrennen der Kotylen beigetragen. Die Wirkung des Lichtes in bezug auf die Anthocyanbildung ist nämlich durchaus örtlich und die Keimblätter färben sich also nur an denjenigen Stellen rot, wo die umgebende Samenhaut dem Licht das Herantreten nicht hindert. Das Abwerfen der Samenhaut ist aber ein Vorgang, der bei den verschiedenen Keimlingen zu ganz willkürlichen Zeiten ihres Alters stattfindet; demzufolge beobachtet man in einer Schale neben Pflanzen mit stark rotgefärbten Keimblättern auch solche, deren Kotyle noch ganz in der Samenhaut eingehüllt und also noch fast ungefärbt sind. Mit dem Abtrennen der Keimblätter wird also ein für jeden Keimling sehr individueller Faktor beseitigt.

Das Resultat wäre noch günstiger, wenn wir pro Schale mehr Samen keimen lieszen, werden doch die Versuchsfehler nur durch die zu geringe Menge des gekeimten Materials verursacht. Deshalb machten wir jede Extraktion der gebildeten Anthocyanmengen in Duplo und berechneten den Durchschnittswert der sich aus der kolorimetrischen Bestimmung ergebenden Verhältniszahlen.

Die kolorimetrische Analyse gestaltet sich ganz einfach. Zu dem Vergleich benutzt man am besten Lösungen, welche sich in ihrer Konzentration nicht zu sehr von einander unterscheiden. Ist diese Bedingung nicht erfüllt, so werden die konzentrierteren Lösungen zuvor mehr oder weniger verdünnt.

Aus dem Obenstehenden geht hervor, dasz man die Leistungsfähigkeit der Methode nicht überschätzen darf. Zu einem Nachweis geringer Unterschiede in den Farbstoffmengen ist sie selbstverständlich nicht geeignet. Trotzdem hat das hier geschilderte Verfahren uns auf einige wichtige Punkte in der Anthocyansynthese in den jungen Buchweizenpflanzen aufmerksam gemacht.

§ 3. Eigene Versuche.

1.

Die Abwesenheit des Anthocyans in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum, welche in der Dunkelkammer gezüchtet wurden, veranlaszt uns zu der Frage, ob in diesen Pflanzen irgend ein Chromogen aufzufinden sei. Die Versuche, ein Flavon als solches nachzuweisen, schlugen aber vollständig fehl. Zerreibt man die blaszgelben Keimlinge mit etwas Sand und alkoholischer Salzsäure in einem Morser und filtriert man den Brei im Buchnertrichter über eine Talkschicht, so erhält man ein gelbgefärbtes Filtrat, dasz sich nach der Reduktion mit Salzsäure und Magnesium bei 35° C *) nicht rot färbt. Fügt man aber vor der Reduktion zu der Flüssigkeit etwas Quercetin hinzu, so setzt während der Hydrierung eine Anthocyanbildung ein, und die Flüssigkeit nimmt eine schöne blaurote Farbe an. Die Bildung des Anthocyans wird also von etwa dem Rohfiltrat beigemischten Begleitstoffen nicht gehindert. Die beschriebene Reaktion ist also sehr empfindlich, und der Schlusz ist gerechtfertigt, dasz ein Flavon in den Buchweizenkeimlingen nicht, oder wenigstens in nicht nachweisbaren Mengen anwesend ist.

Zur Entscheidung der Frage, ob in den Keimlingen irgend ein anderes Chromogen anwesend sei, überschwemmten wir die jungen Pflänzchen mit einer Lösung von Vanillin in Salzsäure, wie sie von Molisch zu dem mikrochemischen Nachweis von Phlorogluzin benutzt wird. †) Durch dieses Reagenz färben sich die Keimlinge in allen Organen — Stengel und Kotyle, sowie Wurzel — intensiv rot. Quercetin zeigt diese Reaktion nicht.

Drittens beobachteten wir, dasz die jungen Pflanzen, wenn wir sie einige Augenblicke mit verdünnter Salzsäure

*) Nach der Willstätterschen Vorschrift.

†) Molisch gibt an: Eine frisch bereitete Lösung von 0.005 g Vanillin in 0.5 g Spiritus + 0.5 g Wasser und 3.0 g konzentrierter Salzsäure.

aufkochen, ebenso eine rote Farbe annehmen. Während dieser Manipulation färbt sich aber die Flüssigkeit auch rot: Der Träger dieser anthocyanartigen roten Farbe wird offenbar leicht aus dem Gewebe ausgezogen.

Zur Feststellung der chemischen Natur des Chromogens genügen die beschriebenen Erscheinungen durchaus nicht. Die Reaktion mit dem Vanillin-Salzsäuregemisch zeigt, dasz in den Keimlingen irgend ein Phlorogluzinderivat in groszen Mengen anwesend ist. Damit ist aber nicht bewiesen, dasz bei dem Aufbauprozess des Anthocyans in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum auch nicht ein Flavon beteiligt ist. Denn es ist eine bekannte und vielfach beobachtete Tatsache, dasz von den Zwischenstufen einer biochemischen Reaktion im Organismus nur winzige Mengen anwesend sein können (Formaldehyd im Assimilationsprozess).

Die Isolierung der betreffenden Stoffe ist aber zurzeit noch mit grozen Schwierigkeiten verknüpft, weshalb wir auf eine weitere Bearbeitung dieser Fragen verzichteten.

2.

Der Befund Linsbauers (S. 380) und Batalins[97]) dasz eine kurzzeitige Beleuchtung der Buchweizenkeimlinge genügt, damit sie sich nachher im Dunkeln rot färben, ist leicht zu bestätigen. Wenn wir die jungen Pflanzen einige Stunden dem Licht aussetzen, so zeigen sie nachher ein unverändertes Aussehen. Bringt man sie nach der Beleuchtung wieder in die Dunkelkammer zurück, so setzt nach kürzerer oder längerer Zeit eine Anthocyanbilding ein und färben die Pflänzchen sich rot.

Wir schlieszen daraus, dasz der Prozess der Anthocyanbildung kein einfacher Vorgang ist, sondern dasz er sich aus zwei Reaktionen zusammensetzt, von welchen die erste eine photochemische und die zweite ein gewöhnliche Dunkelreaktion ist, z.B.:

A ⟶ B
B ⟶ C

Diese Annahme hat nichts Fremdes; begegnet man doch bei der Chlorophyllbildung ähnlichen Erscheinungen. Es geht daraus hervor, dasz der Prozess der eigentliche Anthocyanbildung (B ⟶ C) in den Buchweizenkeimlingen kein photochemischer Prozess ist; das Licht spielt nur eine Rolle in einem der Prozesse, welche der Farbstoffsynthese vorangehen. Eine Zerlegung der Anthocyanbildung in mehrere Teilprozesse wird auch von vielen anderen Faktoren vorausgesetzt; somit umschreiben wir die beiden obengenannten Reaktionen — in Übereinstimmung mit der Nomenklatur Palladins — wie folgt:

Pc ⟶ C (Pc = Prochromogen; C = Chromogen)
C ⟶ A (A = Anthocyan)

3.

Es fragt sich nun, durch welche Eigenschaften die beiden Reaktionen sich von einander unterscheiden. An erster Stelle wenden wir uns der Dunkelreaktion zu, und untersuchen ihre Abhängigkeit von der Temperatur.

Zehn Schalen mit Buchweizenkeimlingen werden dem Lichte ausgesetzt; sobald die Keimpflanzen sich zu röten anfangen, bringen wir sie wieder in die Dunkelkammer zurück, und beobachten in diesem Raum — also bei einer Temperatur von 20° C — den Verlauf der Rotfärbung. Zu diesem Zweck ziehen wir in fünf verschiedenen Augenblicken zwei Schalen heran und extrahieren wir den Farbstoff aus den von den Kotylen befreiten Keimlingen jeder Schale. Der kolorimetrische Vergleich ergibt also fünf Zahlenpaare, man findet den Durchschnittswert jedes Zahlenpaares — auf die Zahl der extrahierten Keimlinge umgerechnet — in der zweiten Spalte untenstehender Tabelle; diese Zahlenreihe gibt also ein Bild von dem Verlauf der Anthocyansynthese unter den beschriebenen Umständen:

TABELLE 19.

Verlauf der Anthocyanbildung in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum in der Dunkelkammer nach einer vorhergehenden, etwa vierstündigen Beleuchtung bis zum Rotwerden; Temp. = 20° C

Zeit, während welcher die Keimlinge nach der Beleuchtung im Dunkeln verweilten (Stunden)	Verhältnis der gebildeten Anthocyanmengen
16	109
23	131
47	154
87	142
142	128

Aus dieser Tabelle wird ersichtlich (man sehe auch die graphische Darstellung, S. 394):

a. dasz die Anthocyanbildung bei 20° C nach etwa 40—45 Stunden beendigt ist.

b. dasz der Farbstoff, wenn die Keimlinge noch länger im Dunkeln verweilen, offenbar wieder ab oder auch umgebaut wird. Diese Umwandlung des Anthocyans trägt aber, wie sich besonders deutlich aus der Form der Kurve ergibt, einen ganz anderen Charakter als die Bildung des Farbstoffes. Auch soll man nicht vergessen, dasz die Keimlinge in dem Augenblick, wo wir sie dem Licht aussetzten, schon sechs oder sieben Tage alt waren. Nach einem weiteren sechstägigen Aufenthalt im Dunkeln sind sie selbstverständlich stark etioliert; somit ist es schwierig zu entscheiden, ob das Verschwinden des Farbstoffes nicht durch die abnormalen Stoffwechselprozesse in den etiolierten Keimlingen verursacht wird.

Bei einem zweiten Versuch setzten wir die Schalen nach der Beleuchtung in einen Brutschrank. Es zeigte sich, dasz bei der Temperatur von 35° C, welche innerhalb dieses Raumes herrschte, das Maximum im Verlauf der Anthocyanbildung schon nach etwa 10 Stunden erreicht ist. Man sehe auch die graphische Darstellung, S. 394.

TABELLE 20.

Verlauf der Anthocyanbildung in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum in der Brutschrank nach einer vorhergehenden, etwa vierstündigen Beleuchtung bis zum Rotwerden; T = 35° C

Zeit, während welcher die Keimlinge nach der Beleuchtung im Dunkeln verweilten (Stunden)	Verhältnis der gebildeten Anthocyanmengen
4	74
10	87
28	81
47	78

Leider war die Temperatur innerhalb des Brutschranks nicht in allen Teilen genau dieselbe; folglich sind Zahlen etwas unregelmäsziger als im ersten Versuch der Fall war.

Drittens beobachteten wir den Verlauf der Anthocyanbildung in einem Eisschrank. Temperaturmessungen ergaben, dasz die Temperatur in der oberen Hälfte des kalten Raumes etwa 6° C betrug; am Boden war sie aber nur 4° C. Wir stellten im Eisschrank zehn Schalen übereinander. Zur Ausschaltung der durch die Verschiedenheiten in der Temperatur verursachten Versuchsfehler zogen wir zu jeder Extraktion die sämtlichen Keimlinge aus der oberen und der unteren Schale heran. Die nächste Tabelle zeigt, dasz die Anthocyanbildung bei einer derartig niedrigen Temperatur sehr lange anhält; erst nach etwa sechs Tagen hat sie ihren Endpunkt erreicht.

TABELLE 20. *)

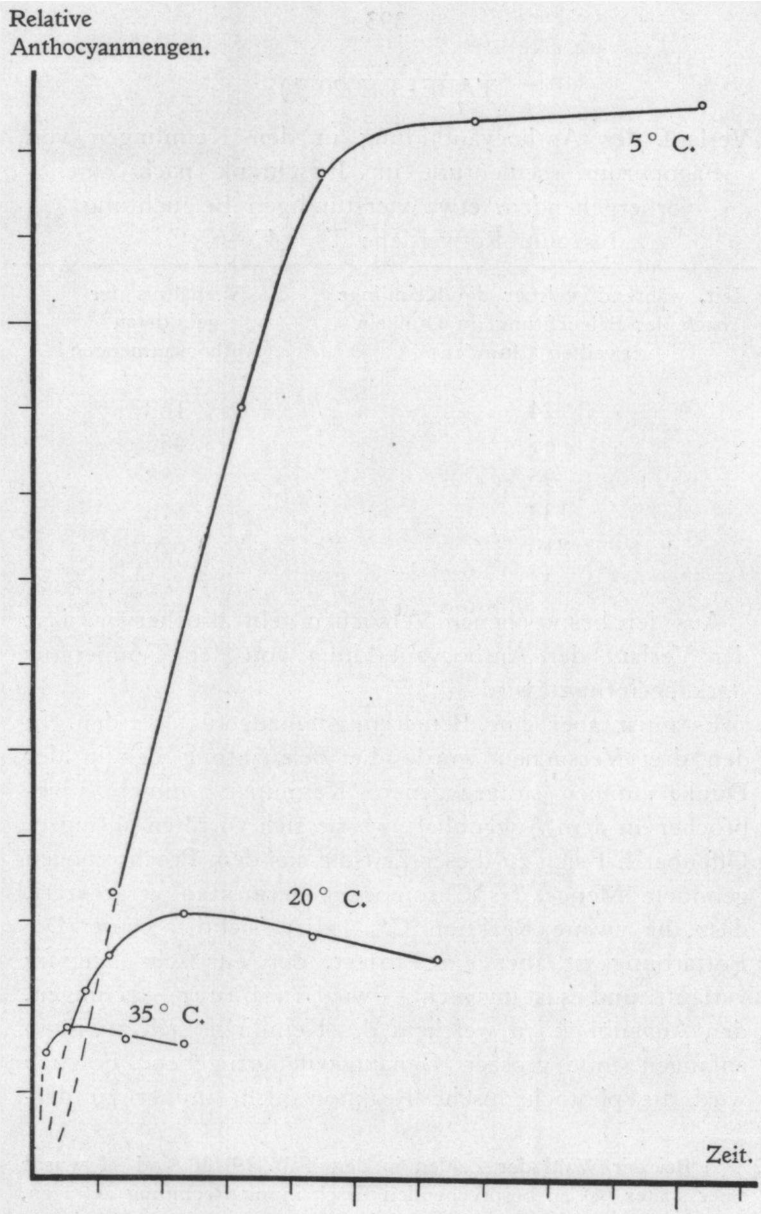
Verlauf der Anthocyanbildung in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum im Eisschrank nach einer vorhergehenden, etwa vierstündigen Beleuchtung bis zum Rotwerden; T = 4°—6° C

Zeit, während welcher die Keimlinge nach der Beleuchtung im Dunkeln verweilten (Stunden)	Verhältnis der gebildeten Anthocyanmengen
24	168
65	450
96	588
138	616
210	626

Aus den besprochenen Versuchen geht also hervor, dasz der Verlauf der Anthocyanbildung von der Temperatur stark beeinfluszt wird.

Es musz aber eine Bemerkung hinzugefügt werden. In den drei Versuchen wurde die Beleuchtung der in der Dunkelkammer aufgezogenen Keimlinge immer abgebrochen in dem Augenblick, wo sie sich zu röten anfingen. Offenbar hat sich zu dieser Zeit die aus dem Prochromogen gebildete Menge des Chromogens dermaszen vergröszert, dasz die zweite Reaktion C $\longrightarrow$ A, sichtbar wird. Die Rotfärbung ist aber ein Prozess, der nur sehr langsam verläuft, und es ist uns nicht — wie Linsbauer — gelungen, den Augenblick, in welchem die Keimlinge sich zu röten anfangen, mit groszer Genauigkeit anzugeben. Folglich wird die photochemische Reaktion nicht immer zu der-

*) Bei der Wahl der Zahlen in den Tab. 19, 20 und 21 wurde einer später (4) zu besprechenden Erscheinung Rechnung getragen, dasz nämlich die endgültig gebildeten Anthocyanmengen bei den verschiedenen Temperaturen ganz verschieden sind.



Verlauf der Anthocyanbildung in den Keimlingen von Fagopyrum esculentum Moench, nach einer vierstündigen Beleuchtung bis zum Rotwerden, T. 35 ° C.; 20 ° C. und 5 ° C.

selben Zeit abgebrochen. Es hängen damit vielleicht Verschiedenheiten in der Dauer der Anthocyanbildung zusammen, jedoch sind diese in bezug auf die Ergebnisse der obenstehenden Versuche zu vernachlässigen.

4.

Die Bildung des roten Farbstoffes wird aber noch in einer ganz anderen Weise von der Temperatur beeinfluszt. Eine einfache Beobachtung ergibt schon, dasz die Keimlinge sich nach einer vorhergehenden Beleuchtung um so stärker rot färben, je niedriger die Temperatur des Dunkelraums, in welcher wir die Keimlinge nach der Beleuchtung zurückbringen, ist. Der Unterschied zwischen der Anthocyanbildung in der Dunkelkammer und derjenigen im Brut- oder im Eisschrank ist sehr grosz und schon mit dem bloszen Auge für jedermann wahrnehmbar. Zur quantitativen Bestätigung dieser Angabe setzten wir sechs Schalen mit Buchweizenkeimlingen dem Lichte aus, nach etwa drei oder vier Stunden brachten wir sie ins Dunkle zurück: Drei in den Brutschrank und drei in die Dunkelkammer. Die Keimlinge der ersten drei Schalen werden nach etwa 10—15 Stunden, diejenigen der letzten drei nach etwa 40 Stunden extrahiert; also zu einer Zeit, wo sich die maximale Farbstoffmenge gebildet hat. Das Ergebnis findet man in der nächsten Tabelle:

TABELLE 21.

Anthocyanbildung in Buchweizenkeimlingen bei verschiedenen Temperaturen (35° und 20° C)

Temperatur des Dunkelraums	Verhältnis der gebildeten Anthocyanmengen
20	44 Verhältnis: 1.7 : 1.0 *)
35	26

*) Diesen Verhältnissen wurde bei der Wahl der Zahlen in den Tabellen 19, 20 und 21 Rechnung getragen.

Weit gröszer ist der Unterschied, wenn wir die Anthocyanmengen, welche bei 20° C und bei 5° C gebildet sind, miteinander vergleichen. Von vier Schalen mit Keimlingen bringen wir nach der Beleuchtung zwei in die Dunkelkammer und zwei in den Eisschrank. Die Verhältniszahlen findet man in der untenstehenden Tabelle:

TABELLE 22.

Anthocyanbildung in Buchweizenkeimlingen bei verschiedenen Temperaturen (20° C und 5° C)

Temperatur des Dunkelraums	Verhältnis der gebildeten Anthocyanmengen
20	50 ~~109~~ Verhältnis 2.2 *)
5	109 ~~50~~

Oben wurde dargetan (Tab. 20; fig. 2) dasz sich nach zwei Tagen im Eisschrank nur die Hälfte der endgültigen Farbstoffmenge gebildet hat. Das Verhältnis der schlieszlich bei diesen Temperaturen (20° und 5° C) gebildeten Anthocyanmengen ist also nicht 2.2, sondern 4.4.

Selbstverständlich wird durch die unter denselben Umständen und zu gleicher Zeit stattfindende Beleuchtung der sechs oder der vier Schalen pro Hypokotyl dieselbe Menge des Prochromogens in Chromogen umgesetzt. Je höher also die Temperatur, um so geringer ist die Menge des Farbstoffes, welche aus einer bestimmten Menge des Chromogens endgültig gebildet wird. Es läszt sich kaum vorstellen, dasz im Brutschrank oder in der Dunkelkammer ein Teil des Chromogens unverändert anwesend bleibt, ohne sich weiter umzusetzen. Dieser Voraussetzung

*) Siehe die Fusznote, S. 395.

wird aber auch von den Beobachtungen widersprochen. Wenn in den Keimlingen, welche sich im Brutschrank rot färben, die Anthocyanbildung nach zehn Stunden beendigt ist, so vertieft sich die rote Farbe nicht, wenn man die Pflänzchen nachher geraume Zeit im Eisschrank aufbewahrt: Es ist offenbar in den Zellen kein Chromogen mehr anwesend.

Die notwendige Schluszfolgerung der beobachteten Erscheinungen ist also diese, dasz bei einer höheren Temperatur das Chromogen nur zum Teil in den Farbstoff und zum anderen Teil in irgend eine andere Verbindung übergeführt wird.

5.

Diese Voraussetzung wird noch bestätigt durch eine Beobachtung, welche schon aus der Form der Kurven, welche den Verlauf der Anthocyanbildung bei verschiedenen Temperaturen angeben, abzulesen ist. Wenn man nämlich einen Vergleich macht zwischen den Anthocyanmengen, welche sich in den ersten Stunden nach der Beleuchtung in den Keimlingen gebildet haben, so ergibt sich, dasz diese umso gröszer sind, je höher die Temperatur des Dunkelraums ist, in welcher die Anthocyanbildung vor sich geht.

In der untenstehenden Tabelle (Tab. 23) findet man einige Verhältniszahlen der Anthocyanmengen, welche sich bei den verschiedenen Temperaturen im Anfang des Rötungsprozesses gebildet haben.

Wenn wir nun den Unterschied zwischen dem ganzen Verlauf der Rotfärbung bei den verschiedenen Temperaturen, z.B. 35° C und 5° C in einigen Worten zusammenfassen, so ergibt sich folgendes:

Sofort nach dem Augenblick, in welchem wir die Schalen in den Brutschrank oder in den Eisschrank gesetzt haben, fängt der Rötungsprozess an, beleuchteten wir doch die

Keimlinge bis zum Rotwerden. Bei einer Temperatur von 35 ° C sind sie nach drei oder vier Stunden schon sehr deutlich rot gefärbt; bei 5° C jedoch ist die Anthocyanbildung kaum sichtbar. Im Brutschrank verringert sich die Geschwindigkeit des Vorgangs aber sehr bald und nach etwa zehn Stunden ist die Farbstoffsynthese bei 35° C beendigt. In diesem Augenblick ist aber der Rötungsprozess im Eisschrank noch in seinem Anfangsstadium begriffen. Bei der niedrigen Temperatur hält der Prozess während vieler Tage an, und zu der Zeit, dasz die Anthocyanmenge sich nicht weiter vermehrt, ist dieselbe viele Malen gröszer als diejenige, welche im Brutschrank nach etwa 10 Stunden von den Keimlingen enthalten wird. Derartige Erscheinungen lassen sich jedesmal beobachten, wenn man den Verlauf der Anthocyanbildung bei verschiedenen Temperaturen beobachtet; je gröszer die Temperaturdifferenz, umso sprechender sind auch die beschriebenen Unterschiede.

TABELLE 23.

Vergleich der Anthocyanmengen, welche sich im Anfang des Rötungsprozesses bei verschiedenen Temperaturen gebildet haben

Nr.	Versuchs-temperatur	Zeit, während welcher die Keimlinge nach der Beleuchtung im Dunkeln verweilten (Stunden)	Verhältnis der gebildeten Anthocyanmengen; pro Hypokotyl berechnet
1	35	1¼	37
	20		24
	5		unmeszbar wenig
2	35	2½	53
	15		30

Die Erklärung dieser Erscheinungen ist ziemlich einfach. Es handelt sich an erster Stelle um die Reaktion:

$$C \longrightarrow A \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

Je höher die Temperatur, umso gröszer ist der Teil des Chromogens, der sich nicht in den Farbstoff, sondern in irgend eine andere Verbindung X umwandelt. Es verläuft also neben der Anthocyanbildung noch eine zweite Reaktion:

$$C \longrightarrow X \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

Die Geschwindigkeit, mit welcher sich das Chromogen in Anthocyan umsetzt, wird von zwei Faktoren bestimmt: 1. Von der Temperatur, bei welcher sich die Keimlinge röten, und 2. Von der Konzentration der Reaktionsprodukte, welche sich an der Reaktion beteiligen. Wenn die Schalen unter denselben Umständen dem Lichte ausgesetzt wurden, so ist die Konzentration der Reaktionsprodukte, d.h. die gebildete Menge des Chromogens, beim Anfang des Rötungsprozesses dieselbe; hat sich doch während der Beleuchtung in jeder Schale pro Keimling dieselbe Menge des Chromogens gebildet. Die Geschwindigkeit der Umwandlung C-A wird folglich in diesem Augenblick (Anfang des Rötungsprozesses) nur durch die Temperatur bestimmt, also je höher die Temperatur umso höher ist auch die Menge des Anthocyans, welche sich während der ersten Stunden nach der Beleuchtung bildet.

Beim Fortschreiten der Anthocyanbildung nimmt die Menge des Chromogens fortwährend ab. Diese Abnahme ist bei höheren Temperaturen am stärksten, erstens weil $v_1^{35} > v_1^{20} > v_1^{5}$; und zweitens weil sich besonders bei der höheren Temperatur der Einflusz der zweiten Reaktion C-X geltend macht. Demzufolge ist z.B. bei 35° C die Konzentration des Chromogens schon nach etwa zehn Stunden auf Null herabgesunken und wird trotz der hohen Temperatur kein Anthocyan mehr gebildet. Bei einer

niedrigen Temperatur ist aber die Menge des Chromogens, welche sich in die Verbindung X umsetzt, weit geringer; deshalb ist die schlieszlich im Gewebe gebildete Anthocyanmenge weit gröszer.

Das Ergebnis obenstehender Versuche läszt sich auch in einer etwas mehr exakten Weise ausdrücken: Den Gesetzen der Chemie gemäsz verhalten sich die Mengen zweier Stoffe IJ und Z, welche sich durch zwei neben einander verlaufende Reaktionen aus einem Stoff S zu bilden vermögen:

$$S \longrightarrow IJ$$
$$S \longrightarrow Z$$

wie die betreffenden Reaktionsgeschwindigkeiten, v_{sij} und v_{sz}. Wenden wir diese Regel auf das Schema der Anthocyanbildung an, d.h. auf die beiden Reaktionen

$$C \longrightarrow A$$
$$C \longrightarrow X$$

so ergibt sich, dasz bei diesem Reaktionenpaar das Verhältnis der Reaktionsgeschwindigkeiten v_1/v_2 mit steigender Temperatur sinkt. Also, wenn

$$T_1 > T_2$$

so ist auch

$$\left[\frac{v_1}{v_2}\right]_{T_1} < \left[\frac{v_1}{v_2}\right]_{T_2}$$

6.

Eine weitere Frage, mit welcher wir uns beschäftigen, galt den Zusammenhang zwischen der Anthocyanbildung und der zugeführten Lichtmenge. An einem dunklen Tag setzten wir fünf Schalenpaare dem Lichte aus, das erste Paar während einer Stunde, das zweite Paar während zwei Stunden, usw. Die Beleuchtungsdauer des fünften Paares war fünf Stunden. Der Versuch wurde mitten am Tag gemacht, somit verhielten sich die zugeführten Licht-

mengen ungefähr wie 1 : 2 : 3 : 4 : 5. Der kolorimetrische Vergleich ergab wieder fünf Zahlenpaare, deren Durchschnittswerte in der nächsten Tabelle angegeben sind:

TABELLE 24.

Abhängigkeit der Anthocyanbildung in den Buchweizenkeimlinge von der zugeführten Lichtmenge

Beleuchtungszeit (Stunden)	Verhältnis der nach 40 Stunden in den Keimlingen gebildeten Anthocyanmengen.
1	16
2	59
3	111
4	193
5	232

Nach fünf Stunden ist die Anthocyanbildung offenbar noch gar nicht beendigt. Zu dieser Zeit hält also auch die Reaktion Pc ⟶ C mit ungeschwächter Geschwindigkeit an und ist der Vorrat des Prochromogens, welcher ursprünglich in der Pflanze anwesend war, noch gar nicht erschöpft.

7.

Es kommt aber eine Beobachtung hinzu, wodurch die Sachen sich komplizierter verhalten als bisher angegeben wurde. Wenn nämlich der Vorgang Pc ⟶ C ein rein photochemischer Prozess ist, so darf er von der Temperatur nicht beeinfluszt werden. Zur Entscheidung dieser Frage stellen wir uns vier Schalen mit Buchweizenkeimlingen her. Sie werden mit einer zweiten Schale von einem etwas gröszeren Durchmesser überdeckt. Unter jedem der Schalenpaare binden wir mittels eines Kupferdrahts, welcher zu gleicher Zeit die beiden Schalen zusammenhalten soll, ein groszes Stück Blei. In dieser Weise wird

erreicht, dasz man die Schalen in ein Wasserbad einsenken kann, ohne dasz die Keimlinge sich benetzen. Zwei Schalen setzen wir in ein Thermostaten, dessen Wassertemperatur 35° C beträgt, die zwei anderen in ein zweites Thermostaten, dessen Temperatur auf 20° C konstant gehalten wird. Die beiden Wasserbäder stehen sofort nebeneinander, damit die Beleuchtung der Keimlinge im Tageslicht möglichst dieselbe sei. Schon nach etwa zwei Stunden wird an den Keimlingen des warmen Bades sichtbar, dasz der Rötungsprozess angefangen hat, während die Keimlinge welche bei 20° C bestrahlt werden, noch unverändert aussehen. In diesem Augenblick brechen wir den Versuch ab, und bringen wir die vier Schalen wieder in die Dunkelkammer zurück. Nach vierzig Stunden extrahieren wir den Farbstoff; das Ergebnis findet man in der untenstehenden Tabelle:

TABELLE 25.

Verhältnis der Anthocyanmengen, welche sich in den Keimlingen zu bilden vermögen nach einer Beleuchtung bei 35° C und bei 20° C

Temperatur	Verhältnis der Anthocyanmengen; pro Hypokotyl berechnet
35	183
20	115

Noch gröszer sind die Unterschiede, wenn man als Beleuchtungstemperaturen 20° C und 10° C wählt. (Tab. 26, S. 403).

Aus den Ergebnissen dieses Versuchs geht hervor, dasz während der Beleuchtung in den Keimlingen neben der photochemischen auch eine gewöhnliche chemische Reaktion verläuft; und dasz die Geschwindigkeit der letzteren hinter derjenigen des photochemischen Prozesses zurücksteht.

TABELLE 26.

Verhältnis der Anthocyanmengen, welche sich in den Keimlingen zu bilden vermögen nach einer Beleuchtung bei 20° C und 5° C

Temperatur	Verhältnis der Anthocyanmengen; pro Hypokotyl berechnet
20	67
10	29

Die Erklärung dieser Erscheinungen ist ohne die Annahme unbegründeter Hypothesen zurzeit noch nicht möglich. Die beobachteten Erscheinungen gewinnen aber an Bedeutung, wenn man sie mit den herrschenden Anschauungen über den Einflusz des Lichtes und der Temperatur auf den Rötungsprozess in Beziehung setzt. Die Versuche, welche wir mit den Buchweizenkeimlingen anstellten, beweisen nämlich, dasz auch in einem Fall, wo die Wirkung des Lichtes und der Temperatur zweifelsohne eine direkte ist, das Zusammengehen warmer Licht- und kalter Dunkelperioden dem Auftreten der roten Farbe günstig ist. Es wäre verfrüht diese Ergebnisse zu verallgemeinern. Andererseits aber dringt sich die Frage auf, ob der indirekte Lichteinflusz wohl so grosz sei, als von den verschiedenen Forschern vorausgesetzt wird, und ob auch nicht die intensiv rote Farbe vieler alpinen Gewächse zum grösten Teil einem direkten Lichteinflusz zugeschrieben werden musz.

ZUSAMMENFASSUNG.

I. Unter den Arbeiten, welche im Laufe der Jahre zur Beantwortung der Frage nach der physiologischen Bedeutung des Anthocyans veröffentlicht wurden, nehmen diejenigen, welche das Problem in chemischer

Weise zu lösen versuchen, eine hervorragende Stelle ein.

1. Nach Senebier, de Lamarck, c.s. soll das Anthocyan ein Kennzeichen des Absterbens der Organe sein. Dieser Betrachtungsweise kann aber — ebenso wie der Chromuletheorie, nach welcher das Anthocyan ein Umwandlungs-(Oxydations-) produkt von Chlorophyll sei, nur historischer Wert beigelegt werden.
2. Es gibt keine Gründe, die Anthocyane als die pflanzlichen Umsetzungs-(Oxydations-)produkte der Gerbstoffe zu betrachten. Die diesbezüglichen Angaben beruhen auf einer falschen Methode, deren man sich zum Nachweis von Gerbstoffen bediente.
3. Es läszt sich zurzeit nicht entscheiden, ob die Anthocyane in der Pflanze durch einen Oxydations-, oder durch einen Reduktionsvorgang gebildet werden; oder ob vielleicht diese beiden Faktoren bei dem Aufbau des roten Farbstoffes zusammen- wirken.
   a. Die erste Annahme (Oxydationstheorie) kann aus historischen Gründen leicht erklärt werden. Zu ihrer Stützung fehlt aber jeder experimentelle Beweis. So lange wir bezüglich der Bildungsweise des Anthocyans in der Pflanze nichts weiteres wissen, darf man die Notwendigkeit des Sauerstoffs für das Auftreten der roten Farbe nicht als einen Beweis für diese Hypothese betrachten.
   b. Die zweite Voraussetzung stützt sich erstens auf die Tatsache, dasz in den Extrakten vieler Pflanzen, welche Anthocyan zu enthalten vermögen, die Anwesenheit von Flavonen recht wahrscheinlich ist, und zweitens auf die Beobachtung Willstätters, dasz die Flavone sich durch Reduktion in die Anthocyane überführen lassen. Die Isolierung und Reindarstellung dieser Flavone

steht aber zurzeit noch aus; somit läszt es sich nicht entscheiden, ob die Anthocyane und die Flavone, welche in derselben Pflanze zu verschiedenen Zeiten vorkommen, von einer übereinstimmenden Struktur sind, d. h. ob sie sich nur durch die Oxydationsstufe von einander unterscheiden.

Unsere Kenntnise der chemischen Eigenschaften der Anthocyane und ihrer Chromogene weisen zurzeit noch zu grosze Lücken auf, um eine Lösung des Anthocyanproblems nach chemischem Verfahren zu ermöglichen.

II. An zweiter Stelle hat man versucht, der physiologischen Bedeutung des Anthocyans näher beizukommen durch das Studium der Assimilationsintensität roter Blätter.

1. Fast immer hat man sich aber zur Messung der Assimilationsleistung einer fehlerhaften und veralteten Methode bedient; somit kann den diesbezüglichen Versuchen nur ein geringer Wert beigelegt werden. Nur die vereinzelten Angaben Willstätters sind in methodischer Hinsicht fehlerfrei.

2. Sehr oft hat man auch dem Umstand, dasz die roten und die grünen Blätter sich nicht selten auszer durch den Anthocyangehalt auch in anderen Hinsichten von einander unterscheiden, nicht genügend Rechnung getragen. Unter diesen Umständen ist es nicht zu entscheiden, ob ein Unterschied in der Assimilationsfähigkeit der roten und der grünen Blätter dem Anthocyan oder irgend einem anderen Faktor zu verdanken sei. Nur Griffon schreibt die niedrigen Assimilationswerte, welche er bei verschiedenen roten Blättern beobachtete, dem niedrigen Chlorophyllgehalt und nicht dem Anthocyan zu.

3. Für die theoretische Betrachtungsweise Noacks über die Rolle der Anthocyane im Assimilationsprozess werden von diesem Forscher keine experimentellen Gründe irgend welcher Bedeutung beigebracht.

Mittels der Willstätterschen Methode wurde in der vorliegenden Arbeit eine Untersuchung angestellt nach den von den roten Blättern zerlegten Kohlensäuremengen.

1. An den Purpureavarietäten findet man neben roten Blättern auch solche, welche fast anthocyanfrei sind. Die photosynthetische Wirksamkeit der beiden Blattarten ist dieselbe. Daraus wurde geschlossen, dasz die Absorption bestimmter Strahlenbezirke durch das Anthocyan auf den Assimilationsvorgang ohne Einflusz ist.

2. Die jugendlich roten Blätter weisen ähnlich wie die jugendlich grünen während einer kurzen Zeit nach dem Entfalten eine Erhöhung der Assimilationszahl auf. Es gibt also keinen Grund für die Annahme einer von der Anwesenheit des Anthocyans herrührenden, besonders niedrigen Assimilationsintensität roter Blätter.

3. In mehreren Versuchen wurde beobachtet, dasz die jugendlich roten Blätter zu derselben oder auch zu einer gröszeren Assimilation befähigt sind als die grünen, etwas weiter entwickelten, welche man an derselben Pflanze findet. Im entgegengesetzten Fall aber, gibt es immer zwischen den roten und den grünen Blättern andere Unterschiede (Chlorophyllgehalt), auf welche ein Unterschied in der Assimilation zurückgeführt werden kann.

4. Einige Pflanzen weisen im Frühjahr neben jugendlich roten auch jugendlich grüne Blätter auf;

derart, dasz die beiden Blattarten zu derselben Zeit in demselben Stadium ihrer Entwicklung begriffen sind. Auch in diesem Falle stehen die roten Blätter, soweit es die Assimilationsintensität gilt, gar nicht hinter den grünen zurück.

Die Angaben bezüglich einer chemischen oder einer physikalischen Beziehung zwischen den Anthocyanen und der Kohlensäureassimilation konnten wir also nicht bestätigen.

III. Drittens hat man zur Entscheidung mehrerer Fragen auf dem Gebiete der Anthocyanphysiologie die Abhängigkeit der Anthocyanbildung von verschiedenen Auszenfaktoren erforscht.

1. Die Beobachtung, dasz eine hohe Lichtintensität und eine niedrige Temperatur einen fördernden Einflusz auf den Rötungsprozess vieler Pflanzen ausüben, wird von vielen Forschern aus einer durch diese Auszenbedingungen hervorgerufenen Zuckeranhäufung im Organismus erklärt.
2. Die Anthocyanbildung im Licht beschränkt sich aber nicht auf die chlorophyllführenden Organe, somit gibt es auch einen nicht mit der Assimilation zusammenhängenden Einflusz des Lichtes auf den Rötungsprozess.

In den Keimlingen von *Fagopyrum esculentum* fanden wir ein Material, das sich zu einer näheren Untersuchung des direkten Zusammenhangs zwischen der Anthocyanbildung einerseits und dem Licht und der Temperatur andererseits gut eignete. Dabei stellte sich heraus:

1. Der Prozess der Anthocyanbildung in den Buchweizenkeimlingen setzt sich aus wenigstens zwei Teilprozessen, einem chemischen und einem photochemischen zusammen.

2. Im Licht findet die Umwandlung irgend eines Prochromogens in ein Chromogen statt. Die Geschwindigkeit dieser Reaktion ist umso gröszer, je höher die Temperatur ist. Es verläuft also neben der photochemischen Reaktion eine chemische, deren Geschwindigkeit hinter derjenigen der Lichtreaktion zurücksteht.
3. Der zweite Teil der Anthocyanbildung, die Umsetzung des Chromogens in Anthocyan ist eine gewöhnliche Dunkelreaktion. Der Einflusz der Temperatur auf diese Reaktion ist ganz merkwürdig: Bei einer niedrigen Temperatur ist die Menge des Anthocyans, welche sich aus derselben Menge des Chromogens zu bilden vermag, weit gröszer als bei einer höheren Temperatur. Wir erklären diese Beobachtung durch die Annahme, dasz das Chromogen sich besonders bei der höheren Temperatur auszer in das Anthocyan in irgend eine zweite Verbindung verwandelt.

Das Rotwerden der Buchweizenkeimlinge wird also von einem Zusammengehen warmer Licht- und kalter Dunkelperioden stark gefördert. Ähnliches haben mehrere Forscher für die Anthocyanbildung in anderen Pflanzen beobachtet. Es fragt sich also, ob der indirekte Lichteinflusz wohl so grosz sei, wie manchmal vorgestellt wird. Aus den betreffenden Versuchen geht hervor, dasz eine chemische Erklärungsweise dem Problem ziemlich nahe beizukommen gestattet.

Diese Arbeit wurde ausgeführt unter im *Pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Amsterdam.* Der Direktor, Herr Prof. Dr. Th. Weevers hat mich mit seinem steten Interesse und seinen wertvollen Ratschlägen besonders verpflichtet, wofür ich ihm gerne meinen herzlichen Dank ausspreche.

LITERATUR UND BEMERKUNGEN.

I. ABSCHNITT.

1.

1. J. Senebier. Mémoires physico-chimiques. Genève 1782. Band I, S. 112 ff; Band III, S. 75ff.
2. de Lamarck und de Candolle. Flore Française. Paris. 1815. Band I, S. 198.

2.

3. Th. de Saussure. Recherches chimiques sur la végétation; 1804. Zitiert nach der deutschen Übersetzung von F. S. Voigt: Chemische Untersuchungen über die Vegetation. Leipzig. 1805. S. 50 und 51.
4. Boyle (1680) hat zum ersten Male auf diese Erscheinungen aufmerksam gemacht; später Hagendorn (1685), und Jessopius (1719); für weitere Namen sehe man in: Marquart, Die Farben der Blüthen (1835).
5. Prof. G. Schübler, Tübingen. Untersuchungen über die Farben der Blüthen und einige damit in Beziehung stehende Gegenstände. (Mitteilung aus einer unter Schüblers Anleitung abgefaszten Dissertation von C. A. Franck) Tübingen, 1825. Auch: Schweigger Journ. f. Chemie und Physik; 46. Jahrgang. 1826; S. 285.
6. Man vergleiche auch: Franck, Schweigger Journ. f. Chemie und Physik; 33. Jahrgang. 1821; S. 286.
7. L. Elsner. Über den roten Farbstoff in den Blumenblättern und in einigen andern Pflanzenteilen. Schweigger Journ. f. Chemie und Physik; 65. Jahrgang. 1832. S. 165.
8. Macaire Princep. Sur la coloration automnale des feuilles. Soc. de Phys. de Genève; t. IV. 1828. S. 42.
9. A. P. de Candolle. Physiologie végétale. Paris. 1832. Tome II, S. 901 ff. Deutsche Übersetzung von F. S. Roeper, 1833.
10. Dr. L. Clamor Marquart. Die Farben der Blüthen; eine chemisch-physiologische Abhandlung. Bonn. 1835. Diesem Forscher verdanken wir den Namen Anthocyan.
11. Berzelius. Über die gelbe Farbe der Blätter im Herbst. Ann. d. Pharmazie. (Lieb. Ann.) Bd. XXI; 1837, S. 257.

12. Derselbe. Über den roten Farbstoff der Beeren. Ann. d. Pharmazie. (Lieb. Ann.) Bd. XXI; 1837, S. 262.
13. Leop. Gmelin. Handbuch der theoretischen Chemie. Tl. II; S. 633.
14. F. J. F. Meyen. Phytotomie. Berlin. 1830. S. 141, 148. Mikroskopische Abbildungen zur Phytotomie. Berlin. 1830. Taf. III, fig. 4.
15 H. von Mohl. Untersuchungen über die winterliche Färbung der Blätter. Dissertation. 1837. Auch : Vermischte Schriften botanischen Inhalts, Tübingen 1845, S. 375—392; auch : Flora 1837, XX², S. 673, 689, 705.
16. Derselbe. Recherches sur la coloration herbinale des feuilles. Ann. Sc. nat. (Bot.) 1838. Série 2, IX. S. 212—215.
17. Chevreul. Explication de la zone brune des feuilles du Geranium zonale. C. R. Ac. sci. XLV, 1857. S. 397.
18. Ed. Morren. Dissertation sur les feuilles vertes et colorées envisagées spécialement au point de vue des rapports de la chlorophylle et de l'erytrophylle. Gand. 1858.

3.

19. F. Czapeck. Biochemie der Pflanzen. Zweite Aufl., Jena, 1921; Bd. III. S. 487.
20. F. Reinitzer. Bemerkungen zur Physiologie des Gerbstoffs. Ber. d. D. bot. Ges., VII, 1889, S. 187—196.
21. F. Czapeck. l. c. S. 499.
22. J. Dekker. De Looistoffen. 2 Bände. Haarlem, 1906—1908. Deutsche Übersetzung: Die Gerbstoffe. Berlin 1913.
23. A. Wigand. Einige Sätze über die physiologische Bedeutung des Gerbstoffes, und der Pflanzenfärben. Bot. Ztg, 1862. XX, S. 121—125.
24. C. Nägeli und S. Schwendener. Das Mikroskop. Leipzig. 1862. II, S. 500—509.
25. W. Pfeffer. Pflanzenphysiologie. Erste Aufl., Leipzig. 1881. Bd. I, S. 306. Zweite Aufl., Leipzig. 1897. Bd. I, S. 408.
26. W. Detmer. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Breslau. 1883. S. 22.
27. E. Kutscher. Über die Verwendung der Gerbsäure im Stoffwechsel der Pflanzen. Zitiert nach H. Pick, siehe Anm. 28.
28. H. Pick. Über die Bedeutung des roten Farbstoffes bei den Phanerogamen und die Beziehung desselben zur Stärkewanderung. Bot. Cbl. 1883, XVI. S. 281—284; 314—318; 343—347; 375—382.

29. E. Overton. Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rothem Zellsaft bei Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. XXXIII, 1899. S. 171—231. Englische Übersetzung: Experiments on automnal colouring of plants. Nature LIX, 1899, S. 296.
30. A. Gautier. Sur les matières colorantes des vins. C. R. Acad. sci., LXXXVI, 1878. S. 1507—1510.
31. Derselbe. Sur l'origine des matières colorantes de la vigne; sur les acides ampélochroïques et la coloration automnale des feuilles végétaux. C. R. Acad. sci., CXIV, 1892. S. 623—629.
32. Derselbe. Sur la coloration rouge éventuelle de certaines feuilles et sur la couleur des feuilles d'automne. C. R. Acad. sci., CXLIII, 1906. S. 490—491.
33. M. Mirande. Sur un cas de formation d'anthocyanine sous l'influence d'une morsure d'insecte. C. R. Acad. sci., CXLIII, 1906. S. 413—416.
34. Derselbe. Sur l'origine de l'anthocyanine déduite de l'observation de quelques insectes parasites des feuilles. C. R. Acad. sci., CXLV, 1907. S. 1300—1302.
35. J. Laborde. Sur l'origine de la matière colorante des raisins rouges et d'autres organes végétaux. C. R. Acad. sci., CXLVI, 1908. S. 1411—1413.
36. Derselbe. Sur les transformations de la matière chromogène des raisins pendant la maturation. C. R. Acad. sci., CXLVII, 1908. S. 753—755.
37. Derselbe. Sur le mécanisme physiologique de la coloration des raisins rouges et de la coloration automnale des feuilles. C. R. Acad. sci., CXLVII, 1908. S. 385—386.
39. K. Peche. Über eine neue Gerbstoffreaktion und ihre Beziehungen zu den Anthokyanen. Ber. d. D. bot. Ges., XXXI, 1913. S. 462—471.
40. F. Czapeck. l. c. S. 520.
41. K. Freudenberg. Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe. 1920.
42. K. Noack. Physiologische Untersuchungen an Flavonolen und Anthocyanen. Zschr. f. Bot., XIV, 1922. S. 1—74.

4

43. W. Palladin. Die Verbreitung der Atmungschromogene bei den Pflanzen. Ber. d. D. bot. Ges. XXVIa, 1909, S. 378—389.
44. Derselbe. Über die Bildung der Atmungschromogene in den Pflanzen. Ber. d. D. bot. Ges. XXVIa, 1909 S. 389—394.
45. Derselbe. Über das Wesen der Pflanzenatmung. Biochem. Zschr. XVI, 1909. S. 131—200.

46. Der Beruf auf Overton ist nicht deutlich. „Overton setzt voraus", sagt Palladin, „dasz die roten Pigmente als Produkte einer Oxydation anzusehen sind". Wörtlich findet man bei Overton aber folgendes: „Wir kommen also zu dem Schlusse, dasz der rote Farbstoff mit einiger Wahrscheinlichkeit als eine glukosidische Verbindung angesehen werden kann, deren eine Bestandtheil aus irgend einer Gerbsäure besteht;....". Overton betrachtet also die Anthocyane als Gerbstoffglukoside, d. h. als Verbindungen der Gerbstoffe mit irgend einem Zucker. Siehe auch Anm. 45.

47. W. Palladin. Über Prochromogene der pflanzlichen Atmungschromogene. Ber. d. D. bot. Ges. XXVII, 1909. S. 101—106.
48. Für die Ansichte Wheldales ziehe man ihre Monographie zu Rate: M. Wheldale Onslow. The Anthocyanin Pigments of plants. Second edition; Cambridge, University Press. 1925.
49. E. Mer. Des phénomènes végétatifs qui précèdent ou accompagnent le déperissement des feuilles. Bul. Soc. bot., Paris. XXIII, 1876. S. 176—191.
50. Emery. Sur les variations de l'eau dans les perianthes. Bul. Soc. bot., Paris. XXXVI, 1889. S. 322—333.
51. D. L. Katic. Beitrag zur Kenntnis der Bildung des roten Farbstoffes (Anthocyan) in vegetativen Organen der Phanerogamen. Inaugural-Dissertation, Halle. 1905; zitiert nach Wheldale.

52. Weiter gibt es mehrere Arbeiten, welche das Anthocyan zu dem Atmunsprozess in Beziehung setzen; z. B. von Combes, Rosé, Nicolas. Dieser Teil des Anthocyanproblems wird hier aber nicht berücksichtigt. Die Arbeit von Combes wird zum Teil in der folgenden Abschnitt besprochen.

53. R. Willstätter und A. E. Everest. Über den Farbstoff der Kornblume. Liebigs Ann. Chem., CCCCI, 1913. S. 189—232.
54. F. Keeble und E. F. Armstrong. The Distribution of Oxydases in Plants and their Rôle in the Formation of Pigments. Proc. R. Soc. London. LXXXV B. 1912. S. 214—218.
55. Dieselben. The Rôle of Oxydases in the Formation of the Anthocyanin Pigments of Plants. Journ. of Genetics. II, 1912. S. 277—309.
56. M. Mirande. Sur la relation existant entre l'anthocyanine et les oxydases. C. R. Acad. sci. CLXXV, 1922. S. 595—597.
57. W. R. G. Atkins. Oxidases and their Inhibitors in Plant Tissues. Sci. Proc. R. Soc. Dublin. XIV, 1913. S. 144—156;

XIV (N. S.), 1913. S. 157—168; XIV (N. S.), 1915. S. 317—327.

58. F. Keeble, E. F. Armstrong und W. N. Jones. The Formation of the Anthocyanin Pigments of Plants. Part IV: The Chromogens. Proc. R. Soc. London. LXXXVI, 1913. S. 308—317.

59. R. Willstätter. Siehe unten, Anm. 69.

60. Auf die Besprechung der Arbeiten St. Jonescos und A. Kozlowskis musz hier verzichtet werden. Diese Forscher gaben an, dasz die Extrakte mehrerer Pflanzen nach der Oxydation mit z. B. H_2SO_4 eine rote Farbe erhalten, wlche von Anthocyan herrühren soll. Es fehlt aber jeder experimentelle Beweis, dasz die rote Farbe wirklich von Anthocyan verursacht werde. Es folgen hier die Literaturangaben:

a. St. Jonesco. Transformation, par oxydation, en pigment rouge, des chromogènes de quelques plantes. C. R. Acad. sci., CLXXIII, 1921. S. 1006—1009.

b. Derselbe. Transformation d'un chromogène des fleurs jaunes de Medicago falcata sous l'action d'un oxydase. C. R. Acad. sci., CLXXV, 1922. S. 592—595.

c. Derselbe. Les pigments anthocyaniques et les phlobatannins chez les végétaux. C. R. Acad. sci., CLXXV, 1922. S. 904—907.

d. A. Kozlowski. Formation du pigment rouge de Beta vulgaris par oxydation des chromogènes. C. R. Acad. sci. CLXXIII, 1921. S. 855—857.

5.

61. R. Combes. Production expérimentale d'un anthocyane identique à celle qui se forme dans les feuilles rouges en automne, en partant d'un composé extrait des feuilles vertes. C. R. Acad. sci., CLVII, 1913. S. 1002—1005.

62. Derselbe. Passage d'un pigment anthocyanique extrait des feuilles rouges en automne au pigment jaune contenu dans les feuilles vertes de la même plante. C. R. Acad. sci., CLVII, 1913. S. 1454—1457.

63. Derselbe. Sur la présence, dans des feuilles et dans des fleurs ne formant pas d'anthocyane, de pigments jaunes pouvant être transformés en anthocyane. C. R. Acad. sci., CLVIII, 1914. S. 272—274.

64. P. Karrer. Über Pflanzenfarbstoffe. I und IV. Helv. chim. Acta. Vol. X. 1927; 55; 729.
65. A. G. Perkin und A. E. Everest. The natural colouring matters. London, 1918.
66. A. E. Everest. The production of Anthocyanins and Anthocyanidins. Part III. Proc. R. Soc. London. XC, 1918, S. 251—265.
67. R. Willstätter und H. Mallison. Über die Verwandtschaft der Anthocyane und der Flavone. Sitz. Ber. Akad. Wiss., Berlin, 1914. S. 769—777.
68. F. Keeble, W. N. Armstrong und W. N. Jones. The Formation of the Anthocyanin Pigments of Plants. Part. 6. Proc. R. Soc. London. LXXXVII, 1913. S. 113—131.
69. A. E. Everest. The production of Anthocyanins and Anthocyanidins. Proc. R. Soc. London. LXXXVII, 1913. S. 444—452; LXXXVIII, 1914. S. 326—332.
70. K. Shibata. Untersuchungen über das Vorkommen und die physiologische Bedeutung der Flavonderivate in den Pflanzen. (I. Mitteilung.) Bot. Mag. Tokyo. XXIX, 1915. S. 118.—132. (Für die weiteren Veröffentlichungen aus der Schule Shibatas sehe man die Monographie Wheldales, 2. Aufl. S. 241 ff.)
71. K. Noack. Siehe Anm. 41; II. Abschnitt, 3.
72. Derselbe. Untersuchungen über den Anthocyanstoffwechsel auf Grund der chemischen Eigenschäfte der Anthocyangruppe. Zschr. f. Bot. X, 1918. S. 561—628.
73. R. Combes. La recherche des pseudo-bases d'anthocyanidine dans les tissus végétaux. C. R. Acad. sci., 1922. CLXXIV. S. 58—61.
74. Derselbe. La formation des pigments anthocyaniques. C. R. Acad. sci., CLXXIV. S. 240—242.
75. Derselbe. À propos de publications récentes sur la formation des pigments anthocyaniques. Bul. Soc. bot. Paris. XXII, 1923. S. 222—276.

III. ABSCHNITT

1.

76. B. Corenwinder. Expiration nocturne et diurne des feuilles colorées. C. R. Acad. sci., LVII. 1863. S. 266—268.
77. S. Cloez. Remarques sur la décomposition du gaz acide carbo-

nique par des feuilles diversement colorées. C. R. Acad. sci., LVII. 1863. S. 834—837.

78. B. Corenwinder. Expériments sur des feuilles colorées. C. R. Acad. sci., LVII. 1863. S. 915.

79. Th. W. Engelmann. Die Farben bunter Laubblätter und ihre Bedeutung für die Zerlegung der Kohlensäure im Lichte. Bot. Ztg., XLV. 1887. S. 393—398; 409—419; 425—436; 441—450; 457—463.

80. Die Abhandlungen Kreuslers findet man in den Landw. Jahrbüchern, 14, 1885, S. 913; 16, 1887, S. 711; 17, 1888, S. 161; 19, 1890, S. 649.

81. H. Jumelle. Sur l'assimilation chlorophyllienne des arbres à feuilles rouges. C. R. Acad. sci., CXI. 1890. S. 380—382.

82. Ed. Griffon. L'assimilation chlorophyllienne et la coloration des plantes. Ann. sci. nat. (bot), Paris. sér. 8. X; 1899. S. 1—123.

83. R. Combes. Du rôle de l'oxygène dans la formation et la destruction des pigments rouges anthocyaniques chez les végétaux. C. R. Acad. sci., CL. 1910. S. 1186—1189.

84. Derselbe. Sur le dégagement simultané d'oxygène et d'anhydride carbonique au cours de la disparation des pigments anthocyaniques chez les végétaux. C. R. Acad. sci., CL. 1910. S. 1532—1534.

85. Derselbe. Les échanges gazeux des feuilles pendant la formation et la destruction des pigments anthyaniques. Rev. gén. bot., XXII. 1910. S. 177—212.

86. W. Plester. Kohlensäureassimilation und Atmung bei Varietäten derselben Art, die sich durch ihre Blattfarbe unterscheiden. Beiträge zur Biologie der Pflanzen., 11. 249—304.

87. R. Willstätter. Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin. Julius Springer. 1918.

88. Siehe Anm. 42; II. Abschnitt, 3.

2.

89. M. Geiger. Studien zum Gaswechsel einer extremen Schattenpflanze und zur Methodik der Gaswechselversuche. Jahrb. f. Wiss. Bot., 67. 1928. S. 635—701.

90. C. A. Gouwentak. Untersuchungen über den N—Stoffwechsel bei Helianthus annuus. Rec. trav. bot. Néerl. XXVI. 1929. S. 21—96.

IV. ABSCHNITT

1.

91. Siehe Anm. 29; II. Abschnitt, 3.
92. G. Bonnier. Experiences sur la production des caractères alpins par l'alternance des temperatures extrêmes. C. R. Acad. sci. CXXVII., 1898. S. 307 ff.
93. M. Mirande. Sur la formation d'anthocyanine sous l'influence de la lumière dans les écailles des bulbes de certains Lis. C. R. Acad. sci., CLXXV. 1922. S. 429—430.
93. Derselbe. Sur l'influence de la lumière sur la formation de l'anthocyanine dans les écailles des bulbes de Lis. C. R. acad. sci., CLXXV. 1922. S. 496—498.
95. L. Linsbauer. Über photochemische Induktion bei der Anthocyanbildung. Wiesner-Festschrift, Wien. 1908. S. 421—436.
96. Siehe Anm. 72; II. Abschnitt. 5.
97. A. Batalin. Die Einwirkung des Lichtes auf die Bildung des roten Pigmentes. Acta horti Petr., 1880. VI (FAS. 2). S. 279—286. (Zitiert nach Wheldale).